

# Estudio del efecto de ayahuasca y sus componentes sobre la plasticidad y la protección en células PC12

Mariana Pazos<sup>1</sup>, Francisca Baroffio<sup>1</sup>, Bruno González<sup>2</sup>, Adrián Cubas<sup>1</sup>, Paula Flores<sup>1</sup>, Ignacio Carrera<sup>2</sup>, Giselle Prunelli<sup>1</sup>

1. Laboratorio de Mecanismos de Neurodegeneración y Neuroprotección, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay.  
2. Laboratorio de Síntesis Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

## INTRODUCCIÓN

La **ayahuasca** es una bebida psicodélica de origen amazónico usada con fines **medicinales, espirituales y culturales**. Se prepara por decocción de dos especies vegetales: *Banisteriopsis caapi*, fuente de alcaloides β-carbolínicos, y *Psychotria viridis*, fuente del psicodélico clásico N,N-dimetiltriptamina (DMT). (Figura 1)

En el contexto del **"renacimiento de los psicodélicos"**, esta bebida y sus componentes han captado la atención por su **potencial terapéutico** para el tratamiento de depresión y uso problemático de sustancias.<sup>1</sup> La **DMT** presente en la Ayahuasca es un potente agonista del receptor serotoninérgico **5-HT<sub>2A</sub>** e interactúa con otros receptores de serotonina y con el receptor **sigma-1**. DMT ha sido categorizado recientemente como un **"psicoplastógeno"**, capaz de promover plasticidad estructural y funcional en cultivos **corticales**.<sup>2,3</sup> Esto sugiere que su potencial terapéutico podría extenderse a **otras patologías** donde otras poblaciones neuronales se encuentran comprometidas, como en diversas **enfermedades neurodegenerativas**.

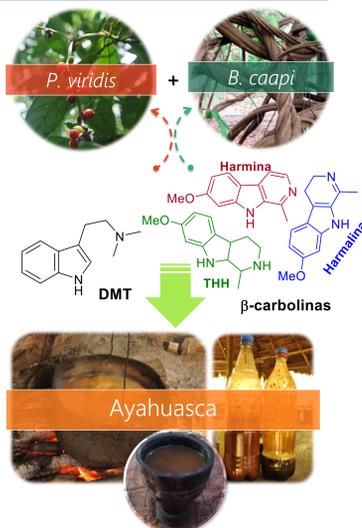


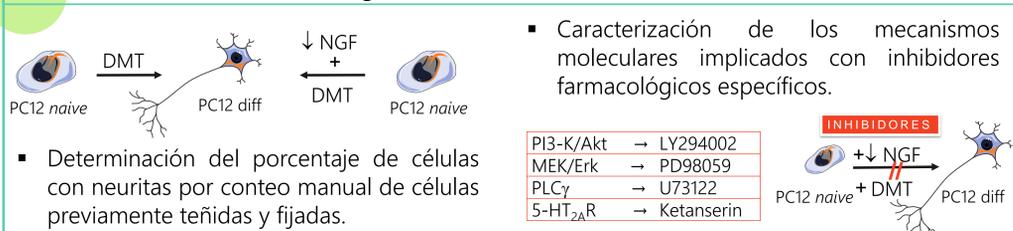
Figura 1. Ayahuasca y sus principales componentes, DMT y β-carbolinas.

## OBJETIVOS Y ESTRATEGIA

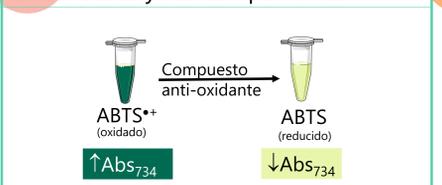
**OBJETIVOS:** El principal objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de DMT sobre eventos relacionados a la **neuroplasticidad** y **neuroprotección**. Específicamente, usando como modelo la línea celular catecolaminérgica PC12, nos propusimos estudiar: **a)** la capacidad DMT de promover la **neuritogénesis** por sí mismo y en condiciones deficientes de NGF, como tratamiento potencial para la neurodegeneración de los sistemas catecolaminérgicos; y **b)** la acción **neuroprotectora** de Ayahuasca y sus componentes contra el daño por **estrés oxidativo**. Además, se estudió la implicancia las **vías intracelulares Erk, Akt y PLCγ**, y del receptor de serotonina **5-HT<sub>2A</sub>** en la neuritogénesis.

**ESTRATEGIA:** Cultivadas en presencia del factor de crecimiento nervioso (NGF), las **células PC12** se diferencian y adquieren **características neuronales** tanto a nivel morfológico como funcional.<sup>4</sup> Utilizamos células PC12 como modelo para estudiar:

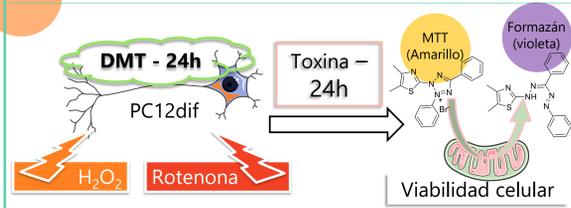
### a) Efecto de DMT sobre la neuritogénesis



### b1) Acción antioxidante de farmahuasca y sus componentes



### b2) Acción neuroprotectora de DMT



## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

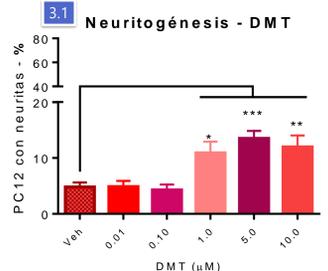
- ✓ El componente psicodélico de la Ayahuasca, DMT, promueve la **generación de neuritas** en células PC12n a 1, 5 y 10 μM en tratamientos de 72h.
- ✓ DMT incrementa la **neuritogénesis** en PC12 en condiciones deficientes de NGF.
- ✓ La activación de las vías **Akt y PLCγ** es **necesaria** para el efecto neuritogénico de DMT en condiciones deficientes de NGF.
- ✓ **Erk** y el receptor de serotonina **5-HT<sub>2A</sub>** **no están implicados** en el efecto neuritogénico de DMT en condiciones deficientes de NGF.
- ✓ Farmahuasca y todos sus componentes, a excepción de harmina, muestran **acción antioxidante** en el ensayo de ABTS. El efecto antioxidante de **farmahuasca** se debe principalmente a **THH y DMT**.
- ✓ DMT **no muestra** efecto neuroprotector en células PC12dif contra **rotenona** ni contra **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** en las condiciones ensayadas.
- ✓ Estamos trabajando para determinar la implicancia de **Akt, PLCγ, Erk, 5-HT<sub>2A</sub>R, TrkA** y el receptor **sigma-1** en la **neuritogénesis** mediada por DMT. Estamos evaluando la implicancia de los receptores **TrkA** y **sigma-1** en el efecto neuritogénico de DMT en condiciones deficientes de NGF.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### a) EFECTO DE DMT SOBRE LA NEURITOGÉNESIS EN CÉLULAS PC12

#### 1) DMT promueve la neuritogénesis

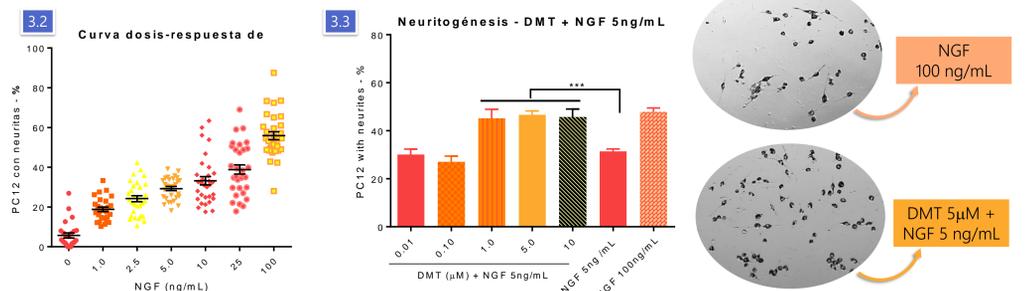
Para determinar el efecto neuritogénico de DMT, las células PC12 sin diferenciar (PC12 naive – PC12n) fueron tratadas con un rango de concentraciones de DMT durante 72h. Posteriormente, fueron teñidas con MTT y fijadas con formaldehído. Se determinó el porcentaje de células con neuritas, encontrando que DMT promueve la neuritogénesis en células PC12 a 1, 5 y 10 μM. (Figura 3.1).



#### 2) DMT aumenta la neuritogénesis mediada por NGF en células PC12

Determinamos el efecto neuritogénico bajo condiciones deficientes de NGF. Para ello, empezamos por definir la **concentración óptima de NGF** tal que el efecto sobre la neuritogénesis sea menor al control positivo (NGF 100ng/mL) y mayor al vehículo (medio de cultivo). (Figura 3.2)

Luego, las células PC12n fueron tratadas con una **curva de concentraciones de DMT** en presencia de **NGF 5ng/mL**. Los resultados muestran un **aumento** en la neuritogénesis mediada NGF de células PC12 a concentraciones de DMT de 1, 5 y 10 μM. (Figura 3.3)



#### 3) Las vías PLC y Akt participan de la neuritogénesis mediada por DMT y NGF 5ng/mL

Evaluamos la implicancia de las vías intracelulares **PLCγ, Erk and Akt** y del receptor **5-HT<sub>2A</sub>** en la acción conjunta de **DMT 5μM + NGF 5ng/mL** sobre la neuritogénesis de PC12 tratando las células con los inhibidores farmacológicos específicos correspondientes. NGF 100 ng/mL se usó como control positivo y vehículo (DMSO) como control negativo. Las vías **PLCγ** y **Akt** parecen mediar el efecto neuritogénico de DMT en condiciones deficientes de NGF. Los inhibidores correspondientes parecen restaurar el efecto de NGF 5ng/mL solo. (Figura 3.4)

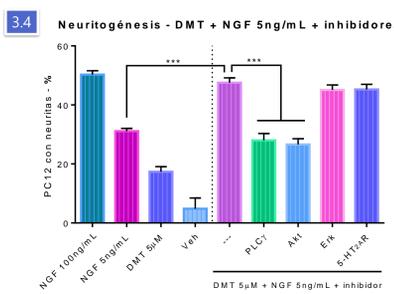


Figura 3. 1. Porcentaje de PC12n que desarrollan neuritas luego del tratamiento con DMT por 72h. 2. Curva dosis-respuesta de NGF para el % de PC12 con neuritas. 3. Porcentaje de PC12 con neuritas de ser tratadas 72h con DMT y NGF 5ng/mL. 4. Co-tratamiento con los inhibidores mostrados en la Figura 2. Se muestran promedios ± SEM de N=5; Significancia estadística: One-way ANOVA seguido del test de comparación múltiple de Dunnett (\* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001).

### b) EFECTO NEUROPROTECTOR DE FARMAHUASCA Y SUS COMPONENTES

#### 1) Acción antioxidante

Evaluamos la acción antioxidante como el % de **ABTS\*** neutralizado por farmahuasca y sus componentes. (Tabla 1). (Figura 4)

Alcaloide	mg/g de Ayahuasca	%
DMT	1.195	59.5
Harmina	5.845	12.3
THH	2.595	26.8
Harmalina	0.142	1.5

Tabla 1. Alcaloides mayoritarios de la ayahuasca por mg de ayahuasca y relativa.

En concordancia con su estabilidad química, la harmina fue el único compuesto ensayado que no mostró acción antioxidante por ABTS.

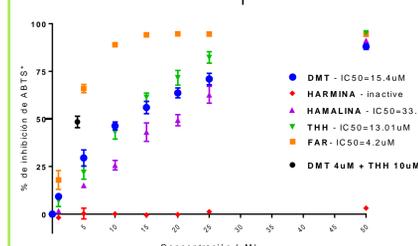
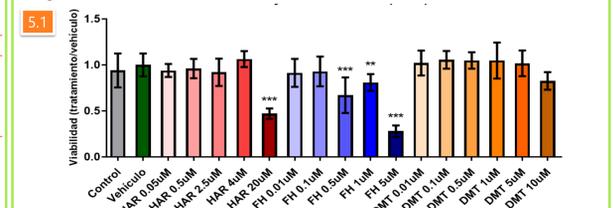


Figura 4. Porcentaje de inhibición de ABTS\* por farmahuasca y sus componentes.

#### 2) Acción neuroprotectora

Mediante el ensayo de MTT evaluamos el efecto de **farmahuasca** y sus componentes sobre la **viabilidad** (Figura 5.1).



Luego evaluamos la capacidad de DMT de proteger células PC12dif contra el daño por **rotenona** y **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**. En las condiciones ensayadas, no vimos efecto neuroprotector. (Figura 5.2).

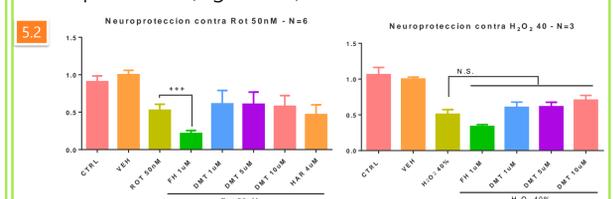


Figura 5. 1. Efecto de farmahuasca y sus componentes sobre la viabilidad de PC12dif. 2. Neuroprotección contra rotenona 50nM y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 40% por DMT en PC12dif. Significancia estadística: One-way ANOVA seguido del test de comparación múltiple de Dunnett (\*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001).

## REFERENCIAS

1. Inserra, A. et al., Psychedelics in Psychiatry: Neuroplastic, Immunomodulatory, and Neurotransmitter Mechanisms. *Pharmacological Reviews*, 73(1), 2021, 202–277.
2. Rodríguez, L. et al., New Insights into the Chemical Composition of Ayahuasca. *ACS Omega*, 7, 2022, 12307–12317.
3. Ly, C. et al., Psychedelics Promote Structural and Functional Neural Plasticity. *Cell Reports*, 23(11), 2018, 3170–3182.
4. K. K. Teng et al., Cultured PC12 cells: A model for neuronal function, differentiation, and survival. *Cell Biology*, Vol 4 Set, vol. 1, 2006, 171–176.

## AGRADECIMIENTOS

