

# COMPARACIÓN DEL EFECTO DE NIFEDIPINA, PROPRANOLOL, INDOMETACINA, PREDNISONA Y FLUOXETINA SOBRE LA ACTIVIDAD MOTORA DE RATAS COMO PRINCIPAL INDICADOR DE DEPRESIÓN A TRAVÉS DE LA PRUEBA DE SUSPENSIÓN DE LA COLA

Berta Alcalá, Kana Amari, Álvaro Camacho, Carlos Castro, Antonio Eblén-Zajjur

Laboratorio de Neurofisiología. Departamento Ciencias Fisiológicas. Facultad Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Valencia Estado Carabobo. Venezuela

Autor de Correspondencia: Antonio Eblén - Zajjur. Correo: aeblen@uc.edu.ve

Recibido: 12 Junio 2012. Aceptado: 23 Julio 2012

## RESUMEN

La depresión es uno de los trastornos del humor más frecuentes en la población general. Muchos medicamentos de uso masivo, y no psiquiátrico, poseen mecanismos de acción que potencialmente pueden influenciar sobre el humor. **Objetivo general:** Comparar el efecto de la Nifedipina, Propranolol, Indometacina, Prednisona y Fluoxetina sobre la actividad motora de ratas de la cepa Sprague Dawley como principal indicador de depresión mediante la Prueba de Suspensión de la Cola (PSC). **Materiales y métodos:** Se utilizaron 60 ratas macho de la cepa *Sprague Dawley*, divididas en 6 grupos: Control (solución NaCl 0,9%), Propranolol (10mg.Kg<sup>-1</sup>), Nifedipina (6mg.Kg<sup>-1</sup>), Indometacina (2mg.Kg<sup>-1</sup>), Prednisona (0,5mg.Kg<sup>-1</sup>) y Fluoxetina (10mg.Kg<sup>-1</sup>). Para medir el efecto antidepresor se realizó la PSC, usando un transductor piezoeléctrico conectado a un sistema de adquisición de datos (DATAQ U148®). Los cambios de fuerza generados por el animal fueron visualizados y grabados, cuantificándose el área bajo la curva de fuerza. **Resultados:** La Fluoxetina mostró la mayor actividad motora diferenciándose significativamente del grupo control (Mann-Whitney; P<0,0001). Propranolol, Nifedipina y Prednisona mostraron un incremento estadísticamente significativo (P<0,0001) de la actividad motora comparada con los valores controles, pero menores que Fluoxetina. El grupo que recibió Indometacina a pesar de presentar la actividad motora más baja, no se diferenció estadísticamente (P>0,05) del control. **Conclusiones:** La administración de Propranolol, Nifedipina y Prednisona muestra un efecto antidepresivo similar pero de menor intensidad a la administración de Fluoxetina. La Indometacina no modificó significativamente la actividad motora de las ratas.

**Palabras clave:** Depresión, Fluoxetina, Propranolol, Nifedipina, Prednisona, Prueba de suspensión de la cola.

**Comparison of the effect of nifedipine, propranolol, indomethacin, prednisone, and fluoxetine on motor activity of Sprague dawley rats as a primary indicator of depression through the tail suspension test.**

## ABSTRACT

Depression is the most frequent mood disorder in general population. Many non psychiatric drugs exert a potential effect over mood. Objectives: the effect of Nifedipine, Propranolol, Indomethacin, Prednisone and Fluoxetine

on motor activity was tested in rats, as the main indicator of depression through the Tail Suspension Test (TST). Materials and Methods: 60 Sprague Dawley male rats were used; separated in 6 different groups: Control (NaCl 0.9%), Propranolol (10mg.Kg<sup>-1</sup>), Nifedipine (6mg.Kg<sup>-1</sup>), Indometacine (2mg.Kg<sup>-1</sup>), Prednisone (0.5mg.Kg<sup>-1</sup>) and Fluoxetine (10mg.Kg<sup>-1</sup>). To measure the antidepressive effect the TST was applied, using a piezoelectric transducer connected to a data acquisition card (DATAQ U148®). The changes of force generated by the rats were viewed, recorded and measured by the area under the force curve. Results: The group treated with Fluoxetine showed the highest motor activity, with a significant difference compared to that of the control group (P<0,0001). Propranolol, Nifedipine and Prednisone showed a significant statistical increase (P<0,0001) in motor activity compared with control, but they were lower than the Fluoxetine group. The lowest motor activity was showed by the Indomethacin group, but without statistical significance compared to control group (P>0.05). Conclusions: The administration of Propranolol, Nifedipine and Prednisone, but not Indomethacin, shows an antidepressive effect, similar but less intense than the administration of Fluoxetine.

**Keywords:** Depression, Fluoxetine, Propranolol, Nifedipine, Prednisone.

## INTRODUCCIÓN

La Depresión es un trastorno del estado de ánimo que consiste en la disminución acusada del interés y la capacidad para sentir placer en todas o casi todas las actividades, así como trastornos del sueño, de la alimentación, afectando considerablemente la vida de las personas que la padecen (1). Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el año 2005 la prevalencia media de depresión fue de 4,9 % como patología primaria, afectando mayormente al sexo femenino (2). La Depresión produce un deterioro en el funcionamiento laboral y social de las personas, y genera un impacto significativo en la productividad a nivel global (3).

Existen varias teorías del origen de la Depresión. La Teoría Monoamínica plantea que la depresión se produce por un desequilibrio en los niveles de aminas biógenas como la Noradrenalina y la Serotonina en el Sistema Nervioso Central (SNC). En cambio, el modelo de la Diátesis-Estrés establece una etiología multifactorial donde interactúan factores genéticos, aminérgicos y hormonales en la génesis de la depresión, y otras teorías que plantean anomalías

en la respuesta hormonal al estrés del eje hipotálamo-hipofisario que son mediados por la hormona liberadora de Corticotropina, Adrenocorticotropina y los Glucocorticoides, cuyos niveles se encuentran elevados en pacientes deprimidos (4).

En conjunto, todas las alteraciones neurobiológicas tienen profundas repercusiones psicológicas. La autculpa y autocrítica aumentan, debido al desarrollo de un pobre autoconcepto, pesimismo, negatividad, indecisión, trastornos de la percepción de la imagen corporal, reducción de la gratificación, tendencia al llanto y al aislamiento social, aumento de la dependencia de otras personas y la adopción de conductas regresivas, entre otras manifestaciones que conllevan a alteraciones de los procesos cognitivos normales (5).

En la actualidad el tratamiento de la depresión combina la farmacoterapia y la psicoterapia. Los tratamientos farmacológicos utilizados para la depresión se han basado en la regulación de los niveles de las monoaminas a nivel del SNC (5). Sin embargo, existen otros fármacos que pueden ejercer influencia sobre el SNC, produciendo alteraciones en el estado de ánimo. En modelos experimentales, esto puede ser medido mediante pruebas conductuales en animales, como la Prueba de Suspensión de la Cola (PSC), que goza de validez en la comunidad científica y se fundamenta en medir los esfuerzos motores del roedor mientras se encuentra suspendido de su cola, posterior a la administración aguda de un fármaco determinado, y cuya medida resulta ser inversamente proporcional al grado de depresión expresado por el animal (6).

En el año 1991, G.H. Perrault, E. Morela, B. Zivkovic y D.J. Sanger realizaron un estudio que incluía la Fluoxetina, para observar el comportamiento en la PSC en ratones, confirmando su acción antidepresiva (7). Existen fármacos como el Propranolol, la Nifedipina, la Indometacina y la Prednisona, que son de uso masivo, y por su mecanismo de acción éstos podrían ejercer influencia en el funcionamiento del SNC, siendo este potencial efecto cuantificable mediante pruebas conductuales y análisis neurobiológicos en modelos de depresión en roedores (8, 9, 10, 11, 12).

## MATERIALES Y MÉTODOS

En el experimento realizado, se utilizaron 60 ratas adultas de la cepa Sprague Dawley, género masculino, con peso comprendido entre 300–350 gramos, que fueron criadas en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo (FCS – UC). Éstas fueron mantenidas en los laboratorios de la Escuela de Ciencias Biomédicas de la FCS – UC, en número de 10 por jaula, a una temperatura ambiente (24-27 °C), con agua y comida ad-libitum, y un esquema de alternancia de luz y oscuridad 12h:12h durante al menos 3 días previos a la realización de la prueba conductual. Las ratas se dividieron en 6 grupos: Control, Nifedipina, Propanolol, Prednisona, Indometacina y Fluoxetina. Éste último representó el estándar de oro para evaluar efecto antidepresor. Cada

grupo estuvo constituido por 10 animales.

Para la realización de la PSC (Fig. 1), se utilizó un dispositivo, compuesto por un disco piezoeléctrico como transductor de fuerza colocado a 50 cm de altura sobre un mesón de laboratorio mediante un soporte universal. Sobre el transductor hace presión en cuña una lámina de plexiglass de la cual se suspende por



Figura 1: Rata adulta *Sprague Dawley* en el momento de la realización de la Prueba de Suspensión de la Cola.

la cola la rata de experimentación, transmitiéndole toda la fuerza desarrollada por el animal en su intento por liberarse de la suspensión (Fig. 2). La transducción piezoeléctrica fue calibrada mediante la fuerza ejercida por un recipiente plástico conteniendo 400 mL de agua dejado oscilar desde el plano horizontal.

El transductor se conectó a una tarjeta de adquisición de datos DATAQ U148® (DATAQ Instruments, Inc. USA) la cual realizó la conversión analógica/digital a razón de 250 lecturas.s<sup>-1</sup> (Fig. 1). Los cambios de fuerza generados por el movimiento del animal de experimentación



Figura 2: Sistema de Transducción. Disco Piezoeléctrico dentro de la lámina de Plexiglass.

fueron visualizados y grabados a tiempo real mediante el programa nativo de la tarjeta de conversión (DATAQ Browser XL®) cuya interfaz gráfica se aprecia en la Fig. 3, graficados en ejes cartesianos como fuerza (ordenadas) versus tiempo (abscisas).

Se utilizó el área bajo la curva de fuerza como parámetro más sensible para el análisis, siendo ésta directamente proporcional a la actividad e intensidad motora presentada por el animal durante la PSC (Fig. 4).

Los distintos medicamentos fueron administrados vía intraperitoneal (i.p.) con una jeringa de insulina. Las siguientes drogas y dosis fueron utilizadas: Propranolol (Inderal® 10 mg.Kg<sup>-1</sup>), Nifedipina (Adalat® 6 mg.Kg<sup>-1</sup>), Indometacina (Indocid® 2 mg.Kg<sup>-1</sup>), Prednisona (Meticorten® 0.5 mg.Kg<sup>-1</sup>) y Fluoxetina (Prozac® 10 mg.Kg<sup>-1</sup>). Los compuestos fueron diluidos en 1mL de solución de NaCl al 0,9%, y administrados 30 minutos previos a la primera lectura del experimento. Al grupo control, solo se le inoculó 1mL de solución de NaCl al 0,9%, i.p. y fue manejado y evaluado bajo condiciones estrictamente idénticas a las experimentales con fármacos.

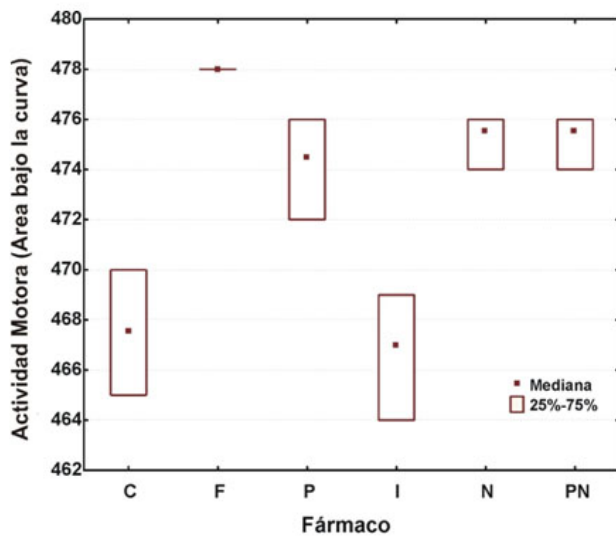


Figura 3: Actividad motora expresada como mediana y percentiles 25-75 del área bajo la curva obtenida en los seis grupos de ratas tratados con solución salina (C), Fluoxetina (F; 10mg.Kg<sup>-1</sup>), Propranolol (P; 10mg.Kg<sup>-1</sup>), Indometacina (I; 2mg.Kg<sup>-1</sup>), Nifedipina (N; 6mg.Kg<sup>-1</sup>) o Prednisona (PN; 0,5mg.Kg<sup>-1</sup>), n=6 para cada grupo de ratas. Las diferencias de los grupos F, P, N y PN con el grupo control son significativas (P<0,0001).

Posterior a la administración del fármaco, a las ratas de los correspondientes grupos se les aplicó la PSC a los 30 y 60 minutos, obteniéndose así dos lecturas de registro por rata, es decir, que por cada grupo de 10 ratas se obtuvo 20 lecturas. La elección de las ratas fue de forma aleatoria dentro de cada grupo. Los experimentos fueron llevados a cabo entre las 8:00 am y 12:30 pm. Cada rata fue suspendida por la mitad de la cola, utilizando cinta adhesiva y pábilo, luego sostenida a un gancho conectado directamente al transductor piezoeléctrico (Fig. 1 y 2), que registraba la actividad motora de los animales. La prueba tuvo un tiempo de duración de 6 minutos por animal en fiel cumplimiento al protocolo validado para la misma.

Se obtuvo los valores del total del área bajo la curva de fuerza en los seis minutos de la PSC para cada animal de cada grupo, calculándose la mediana y los percentiles 25-75. La comparación de los valores entre los grupos se realizó usando el método no paramétrico U de Mann-Whitney. La evaluación estadística fue realizada utilizando el software PAST 2.04 asignándose como nivel de significación P<0,05.

## RESULTADOS

Al comparar el efecto de los fármacos administrados a cada grupo de animales (Tabla 1) se observó que la Fluoxetina administrada a dosis de 10mg.Kg<sup>-1</sup> indujo la mayor actividad motora de todos los fármacos probados diferenciándose significativamente del grupo control (P<0,0001; Mann-Whitney U test), por su parte, el Propranolol (10mg.Kg<sup>-1</sup>), Nifedipina

Grupo Fármaco	PSC <sup>(1)</sup> (área bajo la curva)	% de cambio <sup>(2)</sup>	Significación
Control	467	-----	-----
Indometacina	466,9	-0,13	NS
Fluoxetina	477,9	+2,22	<0,0001
Propranolol	474,4	+1,48	<0,0001
Nifedipina	475,1	+1,63	<0,0001
Prednisona	475,1	+1,63	<0,0001

(<sup>1</sup>) Prueba de Suspensión de la Cola. (<sup>2</sup>) Con respecto a la condición control. (<sup>3</sup>) Test de Mann-Whitney U (NS: no significativo P>0.05). Área bajo la curva expresada en pixeles<sup>2</sup>

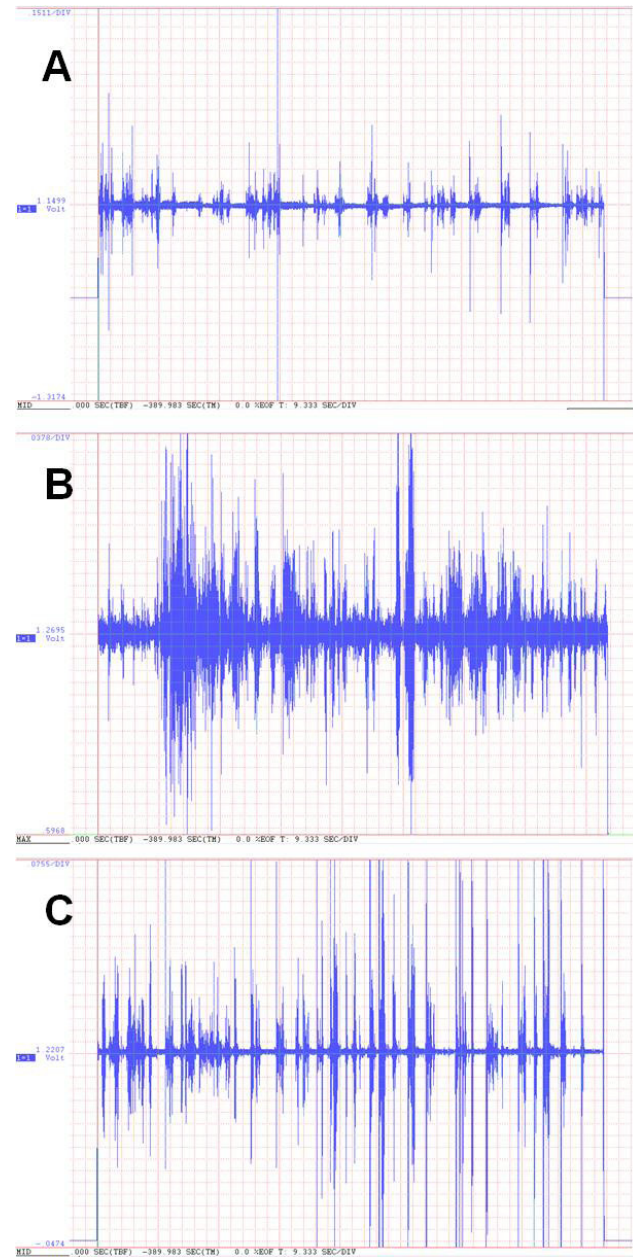


Figura 4: Actividad Motora de rata de grupo Control (Panel A), rata tratada con Fluoxetina (10mg.Kg<sup>-1</sup>) (panel B) y rata tratada con Nifedipina 6mg.Kg<sup>-1</sup> (panel C) utilizando el software de Visualización y Análisis DataQ XL.

(6mg.Kg<sup>-1</sup>) y Prednisona (50 mg.Kg<sup>-1</sup>) mostraron un incremento estadísticamente significativo ( $P < 0,0001$ ; Mann-Whitney U test) de la actividad motora en los animales de experimentación comparada con los valores controles pero menores a los obtenidos con la Fluoxetina (Fig.3). La Indometacina (2mg.Kg<sup>-1</sup>) a pesar de inducir los valores más bajos de actividad en los animales, éstos no se diferenciaron estadísticamente ( $P > 0,05$ ) de los valores del grupo control. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de la primera prueba (30m) y la de la segunda prueba (60m).

## DISCUSIÓN

A pesar de la prevalencia en ascenso de la depresión y su impacto considerable en la sociedad actual, los estudios sobre los factores que pueden influir en su aparición no son muy vastos. El efecto sobre la cognición que tienen algunos fármacos de uso masivo, no psiquiátrico, no ha tenido la importancia merecida, aún cuando el conocimiento de la farmacodinamia nos podría hacer inferir la presencia de efectos colaterales sobre el SNC.

En este estudio, se confirma el efecto antidepresor de la Fluoxetina (inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina) detectado agudamente por la PSC, y se reporta que el Propranolol (bloqueante no selectivo de receptores  $\beta$  adrenérgicos), la Nifedipina (antagonista de canales voltaje dependientes de Ca<sup>++</sup> tipo L), y la Prednisona (Corticoesteroide sintético) a las dosis utilizadas en este experimento, también producen conductas compatibles con antidepresión en la PSC susceptibles de ser detectadas de forma aguda. En cambio, la Indometacina, un antiinflamatorio no esteroideo con acción inhibitoria inespecífica de las ciclooxigenasas, no mostró diferencias conductuales de la actividad motora en la PSC.

La Fluoxetina como miembro de la familia de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, bloquea de inmediato el transporte neuronal, y al parecer por tiempo indefinido, dando pie a reacciones consecutivas complejas. El aumento de la disponibilidad sináptica de serotonina estimula un gran número de tipos de receptores postsinápticos (8) manifestando un efecto agudo que se pone en evidencia con la PSC en diferentes dosificaciones, incluyendo las usadas en este experimento (6). Esto confirma la sensibilidad de la PSC en la detección de la acción antidepresiva de un medicamento administrado agudamente (~30 minutos) a pesar de que su efecto clínico pueda presentarse luego de varias semanas de tratamiento. En el presente estudio, la administración de Fluoxetina sirvió de estándar para la determinación del efecto antidepresor y de la intensidad del mismo. La sensibilidad de la PSC en la detección aguda del efecto antidepresivo no solo ha sido demostrada con la administración de medicamentos de conocida acción antidepresiva, sino también en la terapia electroconvulsiva la cual

disminuye el tiempo de inmovilidad en la PSC (13).

En el caso del Propranolol, que es un fármaco bloqueante inespecífico de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos con actividad antihipertensiva, con capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, sin actividad simpaticomimética intrínseca y sin acción sobre los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos (8), se ha reportado que a las dosis empleadas en este experimento, no modificó los efectos de la terapia electroconvulsiva (13). En otro tipo de pruebas conductuales como la de nado forzado (PNF), el Propranolol ha inducido antidepresión que no ha podido ser reproducidas con fármacos  $\beta$ -bloqueantes que no atraviesan la barrera hematoencefálica (14). Los resultados obtenidos en el presente estudio, sugieren que el Propranolol posee un efecto agudo medible en la PSC, que se relaciona con su mecanismo de acción en el SNC, posiblemente a través de su influencia en las vías noradrenérgicas que intervienen en la regulación del humor.

La participación de los canales de calcio voltaje dependientes en el control del humor se pone de manifiesto en el presente estudio por cuanto la Nifedipina, un antagonista de canales de calcio voltaje dependiente tipo L, dihidropiridínico, que actúa bloqueando la entrada de Ca<sup>++</sup> a las células (8) mostró una acción antidepresiva. Los estudios de los efectos de la Nifedipina en la PSC y en la PNF han mostrado una reducción del tiempo de inmovilidad de manera aguda (6), siendo este efecto revertido con el uso de agonistas de los canales de Ca<sup>++</sup> (15). En el presente estudio, este fármaco mostró propiedades antidepresivas en la PSC con la administración aguda, por lo que considerando la amplia distribución de estos canales iónicos en el SNC (16) y los resultados obtenidos, se plantea su participación en la regulación del humor probablemente ejerciendo influencia en la liberación de Noradrenalina y Serotonina en el SNC.

La Prednisona probada en el presente estudio, es un corticoesteroide sintético. Se han descrito algunas manifestaciones de depresión en roedores cuando se les administra glucocorticoides de forma crónica produciéndose atrofia en subregiones del hipocampo (17). En el presente estudio se administraron dosis agudas, observándose disminución del tiempo de inmovilidad signo de un efecto antidepresivo en la PSC. Es probable que este efecto se deba a la acción favorecedora de la Prednisona sobre las respuestas de estrés en las ratas.

Uno de los antiinflamatorios no esteroideos más potentes es la Indometacina, ésta administrada de manera subcutánea, no produjo ningún cambio conductual en la PSC en ratones con un modelo de depresión inducida por fármacos (Sumiferon, YM643) (18). En el presente estudio, utilizando la vía de administración i.p., la Indometacina no mostró diferencias conductuales al comparar su efecto con el grupo control, sugiriendo que las Ciclooxigenasas y el

metabolismo de las Prostaglandinas en el SNC no se relacionan con el control del humor.

Finalmente se recomienda continuar con estudios experimentales que permitan caracterizar el mecanismo específico por el cual cada fármaco podría ejercer la acción antes descrita, así como también experimentar con otros fármacos de uso masivo que pudieran tener efectos cognitivos depresivos o antidepresivos, de manera que se tengan en cuenta cuando sean prescritos a los pacientes, especialmente sobre aquellos que presenten susceptibilidad a los trastornos del humor.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su profundo agradecimiento al Bioterio y a la Dirección de Investigación y Producción Intelectual de la Facultad de Ciencias de la Salud, por aportar los animales de experimentación utilizados en el presente estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. López J. 2002. Trastornos del Estado de Ánimo, Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, DSM-IV. Elsevier-Masson.
2. Kohn R, Levav I, Caldas de Almeida JM, Vicente B, Andrade L, Caraveo-Anduaga JJ, Saxena S, Saraceno B. Los trastornos mentales en América Latina y el Caribe: asunto prioritario para la salud pública. *Rev Panam Salud Pública*. 2005;18(4/5):229-40.
3. The Numbers Count: Mental Disorders in America (2010) - National Institute of Mental Health. National Institutes of Health (NIH). U.S. Department of Health & Human Services. Disponible en: <http://www.nimh.nih.gov/health/publications/the-numbers-count-mental-disorders-in-america/index.shtml> Acceso el 8 de Mayo de 2010.
4. Pínel J. 2001. Trastornos afectivos: Depresión y Manía. *Biopsicología*. 4ª ed. Pearson. Madrid. 568-572.
5. Beck A, Alford B. 2008. Depression: Causes and Treatment. 2nd ed. University of Pennsylvania Press. Pennsylvania.
6. Cryan J, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience Biobehav Rev.*, 2005;29:571-625.
7. Perrault GH, Morel E, Zivkovic B, Sanger DJ. Activity of litorixetine and other serotonin uptake inhibitors in the tail suspension test in mice. *Pharmacol Biochem Behav*; 1992, 42(1):45-47.
8. Brunton L, Lazo J, Parker K. 2006. Goodman y Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11ª ed. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid.
9. Talley E, Cribbs L, Lee JH, Daud A, Perez-Reyes E, Bayliss D. Differential distribution of three members of

a gene family encoding low voltage-activated (T-Type) Calcium Channels. *J Neuroscience*, 1999;19(6):1895-1911.

10. Akaike N. Distribution of different types of calcium channels in the brain structures. *Neurophysiology*; 1997; 29:297-306.

11. Palacios JM, Kuhar M. Beta-Adrenergic-Receptor Localization by Light Microscopic Autoradiography. *Neurochem Int*, 1982; 42(6):473-490.

12. Yasojima K, Schwab C, McGeer E, McGeer P. Distribution of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 mRNAs and proteins in human brain and peripheral organs. *Brain Res*, 830(2):226-236.

13. Teste JF, Martin I, Rinjard P. Electrotherapy in mice: Dopaminergic and noradrenergic effects in the Tail Suspension Test. *Fundam Clin Pharmacol* 1990;4(1):39-47.

14. Beier EV. A comparative evaluation of the antidepressive activity of different beta-adrenoblockers. *Eksp Klin Farmakol*, 1994; 57(1):20-1.

15. Cohen C, Perrault GH, Sanger DJ. Assessment of the antidepressant-like effects of L-type voltage-dependent channel modulators. *Behav Pharmacol*, 1997; 8(6):475-667.

16. Akaike N. Distribution of different types of calcium channels in the brain structures. *Neurophysiology*; 1997; 29:297-306

17. McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev* 2007;87:873-904.

18. Yamano M, et al. Corticotropin-Releasing Hormone Receptors Mediate Consensus Interferon- $\alpha$  YM643-Induced Depression-Like Behavior in Mice. *JPET*; 2000;292(1):181-187 .