
Estudio multivariado del test de bebida en campo abierto con ratas hiponutridas y desipramina como droga antipánico.

Nora Silvana Viglicca^{1,2}, Silvia Cristina Molina² y Marisa Carola Peñalva².

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Argentina (CONICET) y Servicio de Neurología y Neurocirugía, Hospital Córdoba y

²Centro de Investigaciones, Facultad de Filosofía y Humanidades, Córdoba. Argentina. Correo electrónico: nsviglicca@hotmail.com.

Palabras clave: Ansiedad, antidepresivos, análisis factorial, desmetilimipramina, acicalamiento, rata.

Resumen. Los modelos animales de aproximación-evitación son útiles para el estudio inicial de drogas con efecto sobre la ansiedad pero los componentes de la ansiedad valorados por estos modelos continúan pobremente definidos. Los modelos complejos de evaluación permiten inferencias más completas que aquellos que evalúan sólo una conducta. Estudios previos demuestran que el antidepresivo tricíclico desipramina ejerce un selectivo efecto anticonflicto sobre ratas adultas sometidas a un programa de privación proteica en edad perinatal, en parámetros de conducta espontánea (laberinto en cruz elevado) e ingesta condicionada (Geller-Seifter). Dichas ratas hiponutridas muestran alteraciones en la neurotransmisión noradrenérgica que se asemejan a la activación generalizada del sistema noradrenérgico que presentan los pacientes que sufren ataques de pánico. Se evaluó la actividad anticonflicto de la desipramina en una prueba de conflicto etológico: el test de bebida en campo abierto, sin descartar *a priori* ninguna conducta, bajo un enfoque multivariado. Este enfoque no ha sido considerado en estudios previos de campo abierto y drogas antipánico. Sobre cuatro variables seleccionadas por análisis factorial, la administración de desipramina a una dosis de 10mg/kg por sólo 7 días produjo una significativa interacción dieta × droga, consistente con estudios previos. La interacción fue independiente de los efectos de ambos tratamientos sobre el peso o la ingesta y se expresó, en las ratas hiponutridas, como un decremento en todas las conductas excepto en el tiempo de bebida con respecto a las ratas controles que mostraron, en general, un decremento en todas las conductas excepto en la frecuencia de acicalamiento.

Open field drink test-multivaried study with undernourished rats and desipramine as an antipanic drug.

Invest Clin 2007; 48(4): 495 - 508

Key words: Anxiety, antidepressants, factor analysis, desmethylimipramine, grooming, rat.

Abstract. Approach-avoidance animal models are useful as initial screens for drugs affecting anxiety, but the components of anxiety assessed by these models remain poorly defined. Complex models of evaluation allow more complete inferences than those which are obtained when only one behavior is evaluated. Previous studies demonstrate that the tricyclic-antidepressant desipramine exerts a selective anticonflict effect on adult rats submitted to a protein deprivation schedule at perinatal age, in parameters of spontaneous behavior (elevated plus-maze) and conditioned intake (Geller Seifter). These deprived rats show alterations in noradrenergic neurotransmission that resembled the generalized activation of noradrenergic system displayed by patients suffering from panic attacks. The desipramine anticonflict activity was evaluated by a test of ethological conflict: the Open Field Drink Test, without discarding any behavior *a priori* under a multivaried approach. This approach has not been considered in previous studies with the open field and antipanic drugs. Considering the four variables selected by factorial analysis, desipramine (10 mg/kg/day) administered IP during just 7 days produced a significant diet x drug interaction which was consistent with previous studies. That interaction was independent of the effects of both treatments on weight or intake and was expressed, on deprived rats, as a decrease in all the behaviors, except for the time of drinking, with respect to the control rats, which displayed, in general, a decrease in all the behaviors except for the frequency of grooming.

Recibido: 10-08-2006 Aceptado: 18-04-2007.

INTRODUCCIÓN

Los modelos animales de aproximación-evitación son útiles para el estudio inicial de drogas ansiolíticas y ansiogénicas. Sin embargo, los componentes de la ansiedad valorados por esos modelos continúan pobremente definidos (1). El desarrollo de modelos complejos de evaluación permite analizar mejor el impacto de factores combinados en la determinación de conductas ansiosas. Como ninguna medida aislada resulta suficiente para identificar la ansiedad

animal (1) el análisis conjunto de factores de predisposición temprana con desencadenantes ambientales, o de ambientes conflictivos y no conflictivos, o de diferentes respuestas frente a un mismo tratamiento, etc., contribuye a entender más claramente estos fenómenos.

La prueba de campo abierto es una evaluación comprensiva mediante la cual múltiples conductas del repertorio natural de las ratas son observadas simultáneamente en una caja o arena novedosa para el animal. Como los cambios inducidos por los

tratamientos experimentales no siempre resultan confiables, los investigadores han tendido a enfocar la respuesta ansiosa a una conducta en particular (2) perdiendo información que puede ser interesante. La prueba de bebida en campo abierto (*open field drink test* (OFDT)) modifica a la prueba original incorporando una botella con agua en el campo de observación. Fue desarrollada por Stout y Weiss en 1994 (2) para medir la respuesta frente a manipulaciones ansiogénicas y ansiolíticas, bajo el supuesto que la conducta apetitiva se ve reducida por el nivel de ansiedad experimentado en el ambiente novel. Paralelamente evalúan la ingesta de agua en un ambiente familiar (*home cage*) donde presumiblemente la ansiedad no es un factor de influencia, para determinar si los efectos observados en el campo abierto pueden ser atribuibles a las consecuencias apetitivas más que ansiolíticas de la droga. Stout y Weiss (2) informan que la medida más sensible y confiable para detectar cambios en el nivel de ansiedad es el tiempo de bebida. Sin embargo puede observarse en dicho trabajo, que otras conductas alternativas como el número de aproximaciones a la botella sin beber, la latencia para empezar a beber, el número de veces que levanta las patas delanteras en actitud de exploración (*rearings*) y hasta el acicalamiento, muestran patrones semejantes de cambio tanto para agentes ansiolíticos como ansiogénicos. Así, una cierta conducta, por ejemplo inmovilidad, puede ser producida tanto por ansiedad como por su estado opuesto (sedación). Por otro lado, como el incremento en una conducta generalmente se produce a expensas del decremento en otras, idealmente debería estimarse la conducta de campo abierto como un parámetro único (3) y no seleccionar *a priori* las conductas más relevantes.

El modelo de ratas hiponutridas se presenta como una perspectiva interesante de ser estudiada ya que el análisis de la

interacción entre factores ansiogénicos biológicos y ambientales puede proporcionar una aproximación más realista al entendimiento de los procesos psicopatológicos (4).

Con relación al sistema catecolaminérgico, las ratas hiponutridas muestran alteraciones en la neurotransmisión noradrenérgica (5-7) que se asemejan a las de los pacientes que sufren ataques de pánico (8, 9). Estudios electrofisiológicos del locus coeruleus (que es el mayor productor de noradrenalina del sistema nervioso central) indicaron que, en ratas hiponutridas, la actividad de este núcleo fue significativamente mayor que en ratas controles pero que tanto la fluoxetina (10), como la desipramina (DMI) (5) revirtieron esa hiperactividad. En el laberinto en cruz elevado (9), drogas que interactúan con los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico, incluyendo la DMI, ejercieron un selectivo efecto anticonflicto en ratas hiponutridas. Coincidentemente, la administración de fluoxetina durante 5 días indujo un selectivo efecto anticonflicto en ratas hiponutridas en el OFDT (11) y una semana de administración de 10 mg/kg de DMI produjo el mismo efecto en un estudio de conducta operante e ingesta (aprendida) en situación de conflicto (4).

Considerando lo expuesto, más la falta de antecedentes con referencia a drogas antipánico y prueba de campo abierto bajo enfoque multivariado, nos propusimos evaluar, bajo este enfoque, la actividad anticonflicto de la DMI en el OFDT, analizando el efecto de la interacción dieta \times droga que ya fuera probado con estudios electrofisiológicos (10) y con otros tests de conflicto (4, 9). Una significativa interacción entre ambos tratamientos era esperable (vale decir, una diferente reactividad de los animales controles e hiponutridos a la droga) aunque no se podía prever el patrón combinado de respuesta para todas las conductas del OFDT consideradas, en principio, como

igualmente importantes. Por esta razón, y con fines exploratorios, también se analizó cualitativamente el patrón de respuesta producido con cada conducta en forma aislada. Complementariamente evaluamos la evolución en peso a lo largo del experimento así como el efecto de la DMI sobre el consumo de agua en las cajas de mantenimiento como ambiente familiar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Los animales procedieron de la colonia del bioterio del Departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina (<http://www.fcq.unc.edu.ar>) y los experimentos fueron desarrollados en dicho Laboratorio. Para el tratamiento de privación proteica en dicho bioterio (Tabla I), ratas hembras preñadas de la cepa Wistar fueron separadas en dos grupos a los 14 días de gestación, mantenidas en cajas individuales de polietileno y alimentadas con

dietas isocalóricas (2780 calorías/kg) que contenían 24% y 8% de caseína como fuente proteica para el grupo control (GC) y el grupo hiponutrido (GH), respectivamente (12). La composición de las dietas (%) fue, para el GC, caseína 24,0; sacarosa 44,5; almidón de maíz 9,9; aceite vegetal hidrogenado 15,0; aceite de maíz 1,0; mezcla de vitaminas 1,25; mezcla de minerales 4,0; DL-metionina 0,4 y, para el GH, caseína 8,0; sacarosa 57,0; almidón de maíz 13,4; aceite vegetal hidrogenado 15,0; aceite de maíz 1,0; mezcla de vitaminas 1,25; mezcla de minerales 4,0; DL-metionina 0,4. (Las vitaminas y las sales fueron molidas con mortero y luego agregadas al resto de los ingredientes. Los ingredientes fueron mezclados con procesadora y posteriormente amasados, agregando el agua necesaria para poder cortar finalmente las porciones o *pellets* manualmente).

Producido el parto, las camadas fueron ajustadas a 8 crías por madre (relación machos/hembras cercana a 1). Producido el destete a los 30 días (Fig. 1) las crías fue-

TABLA I
DISTRIBUCIÓN DE LAS RATAS POR GRUPO EXPERIMENTAL Y LOTE

Dieta	Lote	Pretest (N)	Droga	Postest (N)	Agua (N)
C	1	6	SAL	3	2
C	1	6	DMI	4	2
C	2	6	SAL	6	4
C	2	6	DMI	6	4
H	1	6	SAL	5	2
H	1	6	DMI	5	2
H	2	6	SAL	5	4
H	2	6	DMI	6	4
N Total		48		40*	24**

Los 4 grupos experimentales se conformaron combinando las categorías de Dieta y Droga: DIETA: C (Control), H (Hipopnutrida); DROGA: SAL (Salina); DMI (Desipramina); LOTE: 1 (1º día), 2 (2º día); PRETEST (N): Número de casos en el pretest del OFDT; POSTEST (N): Número de casos en el postest del OFDT; AGUA (N): Número de casos en la prueba de consumo de agua en el ambiente familiar; N TOTAL: Número total de casos en cada sección experimental. *Lotes sumados: ver texto. ** Lotes sumados: 6 por grupo experimental.

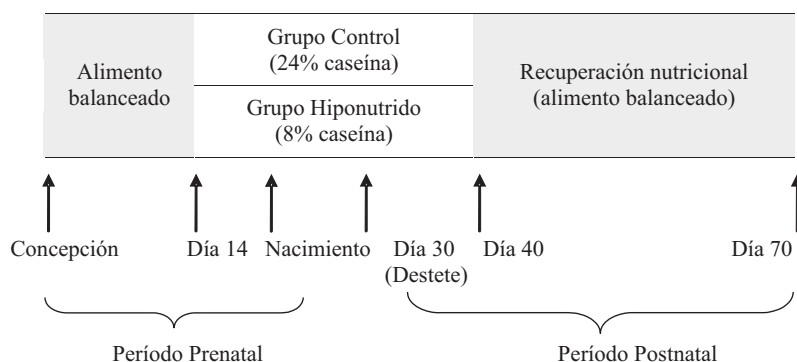


Fig. 1. Esquema de privación proteica perinatal. Se muestra cómo se realizó el tratamiento "Dieta" según las etapas de desarrollo perinatal.

ron alimentadas con las mismas dietas que sus respectivas madres hasta los 40 días de edad (fin del período de privación alimenticia). A partir de entonces, ambos grupos (GC y GH) fueron mantenidos con dieta balanceada comercial por al menos 30 días antes de ser utilizados en los experimentos programados (período de recuperación nutricional). Los animales fueron mantenidos en jaulas estándar (10 por jaula) a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ en un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas, con inicio de la luz a las 07:00 horas, y con alimento y agua *ad libitum*, excepto en los días experimentales en los cuales se implementó restricción de agua. Todos los grupos de estudio se constituyeron con animales provenientes de distintas camadas, para evitar la influencia de la consanguinidad (12). Se utilizaron ratas hembras, de la misma forma que se hizo en los estudios previos donde se estudió el efecto de la hiponutrición y la desipramina en el laberinto en cruz elevado (9) y en la caja de condicionamiento operante (4).

Las investigaciones siguieron los lineamientos de cuidado y uso de animales de laboratorio. Los experimentos fueron aprobados por la organización institucional pertinente.

Drogas

Se utilizó el antidepresivo tricíclico desipramina (DMI) HCL (Lab. Montpellier, Buenos Aires, Argentina), un inhibidor se-

lectivo de la recaptación de noradrenalina. La dosis de 10 mg/kg fue seleccionada por su efectividad en los estudios conductuales y electrofisiológicos previos (4, 5, 9). La droga fue disuelta en una solución de NaCl al 0,9% y administrada IP diariamente durante 7 días. Los animales controles recibieron salina (SAL) en igual volumen (1 mL/kg). La administración de la droga se realizó 14 horas antes de la hora prevista para la evaluación conductual, para evitar los efectos adversos que pueden producirse inmediatamente después de la administración de dosis altas, especialmente en los primeros días de tratamiento (13, 14). La evaluación conductual se realizó en el séptimo día de tratamiento.

Aparato

El test fue realizado en una caja cuadrada de acrílico transparente de $36 \times 36 \text{ cm}$ de lado, con la parte superior abierta y el piso de fórmica de color azul oscuro. En el centro de la cámara se colocó una botella de agua invertida, con la parte final del pico a 10 centímetros del piso. La iluminación fue provista por un foco de luz incandescente de 25 w. colocada a 60 cm del piso de la cámara. Para excluir estímulos visuales extraños, la caja del campo abierto fue rodeada por un biombo oscuro que la cubría en tres de sus lados. La habitación donde se llevó a cabo la prueba se encontraba oscura.

Procedimiento

Un total de 48 ratas fue distribuido al azar en dos lotes de 24 ratas cada uno (Tabla I) y en grupos de 6 animales por caja (4 cajas para el GC y 4 para el GH). En el campo abierto se realizaron dos evaluaciones: el pretest y el test (ver más abajo). Ambas pruebas se llevaron a cabo desfasando la prueba en 2 días, evaluando primero un lote y al día siguiente el otro. Durante 3 días antes del pretest y del test, la ingesta de agua fue restringida a 1 hora de bebida por día en las cajas descritas previamente. En esos días, los animales fueron manipulados diariamente, por al menos 1 minuto, para reducir los efectos no específicos del estrés que produce el manipuleo (2).

El pretest es una prueba idéntica al test que fue realizado, siguiendo las pautas sugeridas por sus autores (2), sólo con el objetivo de seleccionar las ratas que tuvieran niveles adecuados de ingesta de agua basal. De acuerdo con lo descrito en el diseño experimental de dicho trabajo, las ratas que consumieron agua por menos de 15 seg en los 10 minutos que duró la evaluación fueron descartadas.

Antes de evaluar cada rata en el campo abierto, el mismo fue aseado completamente con una solución de ácido acético al 5%, para prevenir la transmisión de claves olfatorias a los sujetos evaluados. Para la evaluación, los animales fueron colocados en el campo abierto y observados por 10 minutos, registrándose las siguientes conductas: latencia hasta que el animal empieza a beber, tiempo que pasa bebiendo o tiempo de bebida, número de aproximaciones al pico de la botella sin bebida (acercamientos sin bebida), número de aproximaciones al pico de la botella con bebida (acercamientos con bebida), levantamiento de las patas delanteras (número de *rears*), frecuencia de acicalamiento (número de veces que realiza *grooming*), tiempo de acicalamiento (tiempo que pasa en *grooming*), tiempo en inacti-

vidad, número de veces que cruza con las cuatro patas un cuadrante del piso (ambulación), número de bolos fecales y número de veces que orina. Después de la prueba cada rata fue regresada a su respectiva caja de mantenimiento.

El registro de conducta fue realizado por dos evaluadoras entrenadas que conocían los tratamientos pero no los patrones de respuesta esperables, las cuales registraron las mismas conductas en el pretest y en el postest. Una observadora registró las conductas de latencia, acicalamiento (frecuencia y tiempo), levantamiento de las patas delanteras y tiempo en inactividad y la otra registró las conductas de tiempo de bebida, acercamientos a la botella (con y sin bebida), ambulación, bolos y orina.

Luego del pretest, quedaron seleccionadas 40 ratas (Tabla I), 19 del GC y 21 del GH, las cuales se distribuyeron en los grupos experimentales de la siguiente forma: 9 animales para el GC/SAL; 10 para el GC/DMI; 10 para el GH/SAL y 11 para el GH/DMI. Los animales fueron tratados con SAL o DMI durante 7 días y en el séptimo día se realizó el OFDT propiamente dicho. La disponibilidad de comida fue siempre *ad libitum* excepto durante la sesión en el campo abierto. Las ratas fueron pesadas cada día de por medio y se evaluó la diferencia en peso producida desde el comienzo hasta el final del experimento.

Prueba de consumo de agua en las cajas de mantenimiento

En esta prueba se evaluaron dos ratas por caja para evitar el aislamiento social. Se colocaron dos botellas de agua por caja y se tomó la botella como unidad de observación. Al igual que en el OFDT, también se subdividió el experimento en dos días de evaluación, según los mismos lotes de animales antes descritos. Estos animales fueron tratados un día adicional con DMI o SAL y fueron evaluados en su consumo de

agua tomando el peso inicial de las botellas y el peso después de la ingesta, en el día que siguió a la última evaluación del OFDT. Las parejas fueron evaluadas por un período de una hora de ingesta, de acuerdo a lo que estaban habituadas en las cajas de mantenimiento. Un total de 24 animales se distribuyó en números iguales en los cuatro grupos experimentales (Tabla I).

Análisis estadístico

Sobre todas las variables analizadas en el OFDT se realizó un análisis factorial, para detectar las más relevantes o las que mejor explicaron la varianza entre los sujetos por el método de los componentes principales y según la rotación varimax. Luego se incorporaron las variables que tuvieron mayor carga en el análisis factorial, como variables dependientes en un análisis de varianza multivariado (MANOVA) tomando la dieta (GC y GH) y la droga (DMI y SAL) como variables independientes de un diseño bifactorial.

Para la diferencia en peso desde el día 1 al 7 de tratamiento y para la ingesta en la

caja de mantenimiento se realizaron ANOVAs bifactoriales (dieta \times droga) sobre la variable dependiente.

La relación que expresó la hipótesis de estudio, fue la interacción dieta \times droga. (El coeficiente R de Rao es, en el MANOVA, el equivalente del estadístico F en el ANOVA). En caso de duda sobre el efecto de alguna variable interviniente sobre la interacción (como, por ejemplo, el peso) se utilizó MANCOVA con dicha variable interviniente como covariable.

RESULTADOS

Los resultados del análisis factorial pueden verse en la Tabla II. Cuatro factores explicaron el 75% de la varianza con valores propios (*eigen values*) mayores que uno. La variable con mayor carga para el primer factor, que fue el más importante por explicar un 37% de la varianza, fue el tiempo de bebida, siguiendo en importancia los acercamientos con bebida, la cantidad de bolos fecales, el tiempo en inactividad y la latencia

TABLA II
ANÁLISIS FACTORIAL EN LAS CONDUCTAS DEL OFDT

Variable	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Tiempo de bebida*	<u>-0,788</u>	0,051	0,334	-0,087
Acercamientos con bebida	<u>-0,779</u>	0,201	0,188	0,151
Acercamientos sin bebida*	0,187	<u>0,848</u>	-0,065	-0,209
Latencia	<u>0,646</u>	-0,307	-0,405	-0,090
Levantamiento patas delanteras	-0,509	<u>0,724</u>	0,001	0,026
Frecuencia de acicalamiento*	-0,008	0,043	0,038	<u>-0,977</u>
Tiempo de acicalamiento*	0,062	0,041	<u>-0,838</u>	0,140
Ambulación	-0,299	<u>0,758</u>	0,267	0,208
Tiempo en inactividad	<u>0,654</u>	-0,534	0,042	0,187
Bolos	<u>0,674</u>	0,340	0,222	0,001
Orina	0,195	-0,105	<u>-0,796</u>	-0,086

Saturación o carga de cada variable por factor (componentes principales y rotación Varimax). Se han subrayado las cargas $> 0,60$ y se han resaltado con negrita las cargas más altas por factor. OFDT: Prueba de bebida en campo abierto. * Variables incorporadas al MANOVA.

hasta comenzar a beber. En el segundo factor (16% de la varianza) agruparon, en orden de importancia, los acercamientos sin bebida, la ambulación (exploración horizontal) y el levantamiento de las patas delanteras (exploración vertical). En el tercer factor (12% de la varianza), agruparon el tiempo de acicalamiento en primer lugar y la orina en segundo lugar. En el último factor (10% de la varianza) sólo se observó a la frecuencia de acicalamiento como variable de relevancia.

La incorporación de las variables con mayor carga en el MANOVA bifactorial, indicó efecto principal de dieta ($R \text{ Rao } (4, 33) = 2,69; p < 0,048$), de droga ($R \text{ Rao } (4, 33) = 3,57; p < 0,016$) e interacción significativa dieta \times droga ($R \text{ Rao } (4, 33) = 3,17; p < 0,026$). Vale decir, el GC y el GH fueron diferentes entre sí, los dos se vieron afectados por el tratamiento con DMI o SAL, pero el efecto del tratamiento fue diferente para cada grupo.

Analizando el patrón cualitativo de respuesta para el tiempo de bebida en la Fig. 2, podemos ver que con SAL el GH tendió a tomar más agua que el GC y que el tratamiento con DMI sólo acentuó esta diferencia. En los acercamientos sin bebida

(Fig. 3) se observó, también con SAL, una mayor actividad de parte del GH pero, al revés que con el tiempo de bebida, el tratamiento con DMI anuló esa diferencia. En la conducta de acicalamiento, y en sus dos parámetros, los dos grupos cambiaron, luego del tratamiento con DMI, el patrón observado con SAL con respecto al otro grupo: El GC con DMI aumentó las veces que se acicaló, en relación con su propio desempeño en SAL, mientras que el GH las disminuyó (Fig. 4). Los dos grupos disminuyeron con DMI el tiempo que pasaron acicalándose con SAL, pero el GC lo hizo más notablemente (Fig. 5). Resumiendo: el GH mostró una caída en todas las conductas salvo en la de tiempo de bebida, la cual no se vio afectada o aumentó levemente, y el GC mostró en general caídas en todas las conductas, salvo en la frecuencia de acicalamiento que aumentó.

Cabe aclarar que haciendo un ANOVA para cada una de las variables dependientes por separado, no se obtuvieron los resultados descritos para el MANOVA (ni en magnitud, ni en el patrón de respuesta) ya que fueron las cuatro variables juntas las que produjeron los efectos significativos de cada uno de los tratamientos por separado así

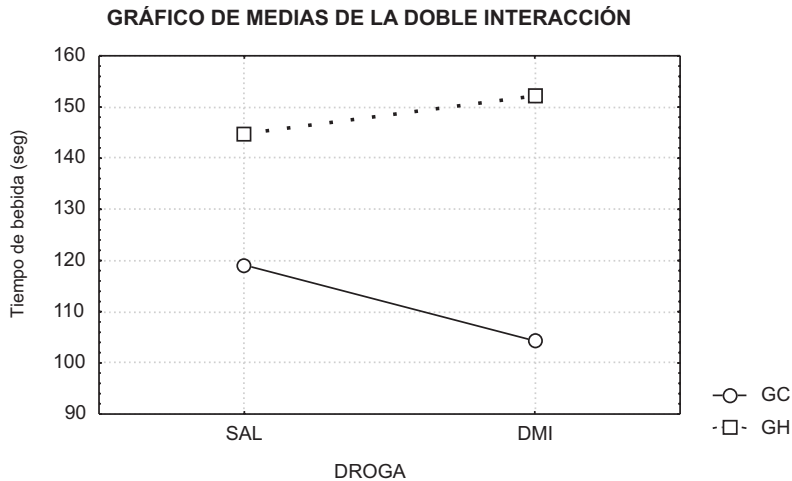


Fig. 2. Aporte del tiempo de bebida a la interacción dieta \times droga en un MANOVA bifactorial ($Rao R (4,33) = 3,17; p < 0,026$). Dieta: Grupo Control (GC); Grupo Hiponutrido (GH). Droga: tratamiento con salina (SAL); tratamiento con desipramina (DMI).

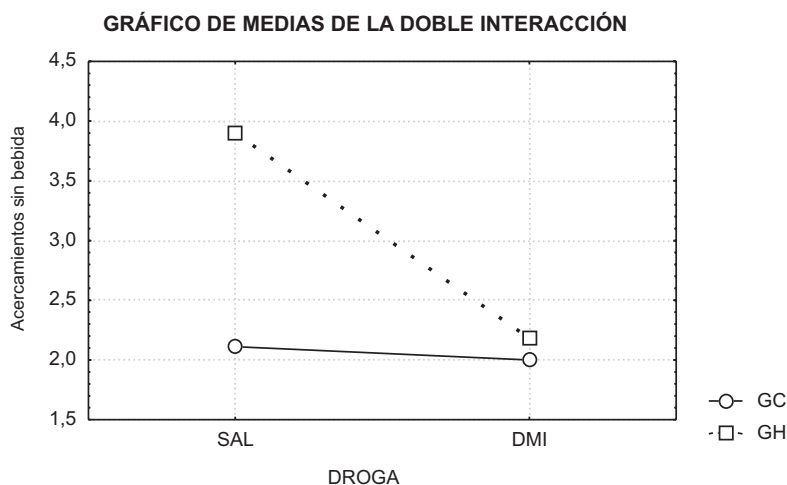


Fig. 3. Aporte de los acercamientos sin bebida a la interacción dieta × droga en un MANOVA bifactorial (Rao R (4,33) = 3,17; p < 0,026). Dieta: Grupo Control (GC); Grupo Hiponutrido (GH). Droga: tratamiento con salina (SAL); tratamiento con desipramina (DMI).

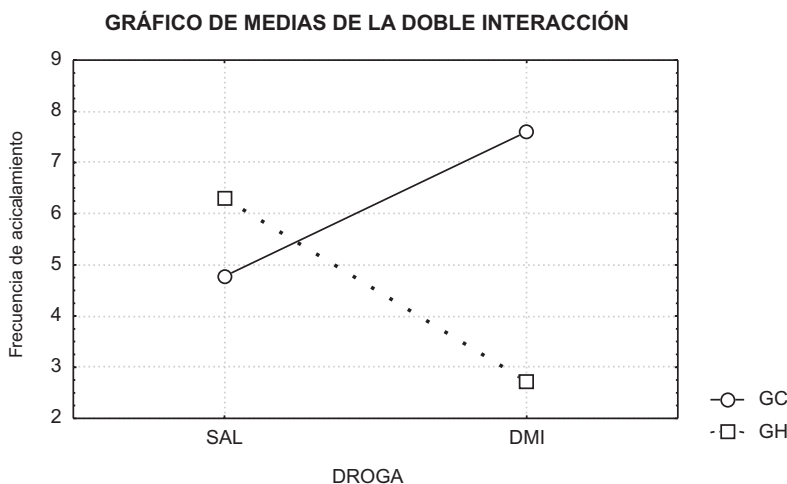


Fig. 4. Aporte de la frecuencia de acicalamiento a la interacción dieta × droga en un MANOVA bifactorial (Rao R (4,33) = 3,17; p < 0,026). Dieta: Grupo Control (GC); Grupo Hiponutrido (GH). Droga: tratamiento con salina (SAL); tratamiento con desipramina (DMI).

como de la interacción entre ellos en el enfoque multivariado. En el resto de las variables registradas en el OFDT, pero no incorporadas al modelo multivariado, la acción de la DMI tendió a disminuir las diferencias observadas entre los grupos bajo tratamiento con SAL (Tabla III). Independientemente de esto, con algunas de ellas se pudieron hacer otras combinaciones en el MANOVA que no afectaron mayormente los efectos. Por ejemplo, reemplazando el tiempo de be-

bida por cualesquiera de las otras variables que también tuvieron carga alta en el primer factor, los efectos principales y la interacción fueron cualitativa y cuantitativamente muy semejantes (resultados no mostrados pero disponibles para quien lo solicite).

Las ratas controles mostraron mayor peso que las ratas hiponutridas al comienzo del experimento. Así el grupo control tenía un peso de $213,79 \pm 18,24$ g vs $203,04 \pm$

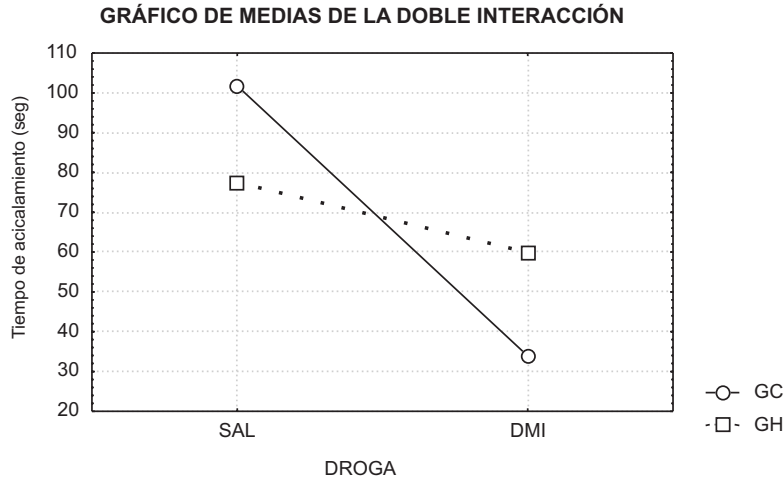


Fig. 5. Aporte del tiempo de acicalamiento a la interacción dieta × droga en un MANOVA bifactorial (Rao R (4,33) = 3,17; p < 0,026). Dieta: Grupo Control (GC); Grupo Hiponutrido (GH). Droga: tratamiento con salina (SAL); tratamiento con desipramina (DMI).

TABLA III
MEDIAS PARA TODAS LAS CONDUCTAS DEL OFDT

Variable	GC/SAL	GC/DMI	GH/SAL	GH/DMI
Tiempo de bebida*	119,11	104,30	144,80	152,18
Acercamientos con bebida	5,00	4,50	8,00	5,64
Acercamientos sin bebida*	2,11	2,00	3,90	2,18
Latencia	211,11	130,30	65,80	54,91
Levantamiento patas delanteras	16,22	18,90	31,80	25,27
Frecuencia de acicalamiento*	4,78	7,60	6,30	2,73
Tiempo de acicalamiento*	101,78	33,90	77,50	59,91
Ambulación	11,33	14,20	20,80	17,73
Tiempo en inactividad	95,56	97,60	11,80	37,09
Bolos	3,11	2,30	1,80	2,64
Orina	0,67	0,30	0,30	0,18
N	9	10	10	11

Valores medios obtenidos por los cuatro grupos experimentales en todas las conductas medidas en la prueba de bebida en campo abierto (OFDT). Grupo Control (GC). Grupo Hiponutrido (GH). Tratamiento con salina (SAL). Tratamiento con desipramina (DMI). N: Número de casos. * Variables incorporadas al MANOVA.

14,52 g del grupo hiponutrido (ANOVA: F (1, 46) = 5,10; p < 0,03). La caída en peso producida a lo largo del tratamiento indicó, de acuerdo con un ANOVA, efecto principal de dieta (F (1,36) = 4,95; p < 0,032), de droga (F (1,36) = 67,53; p < 0,001) pero ausencia de interacción dieta × droga (F (1,36) = 0,258; p < 0,614). El GC perdió,

en general, más peso que el GH, el tratamiento con DMI produjo mayor caída en peso que el tratamiento con SAL, pero el efecto combinado de los tratamientos fue semejante para los dos grupos (Tabla IV). De todas formas, los resultados de la interacción dieta × droga en el análisis multivariado del OFDT, no cambiaron con la incorpo-

ración del peso inicial o de la caída en peso como covariables en un MANCOVA (dieta \times droga (Covariable: Caída en peso): R Rao (4, 32) = 3,08; $p < 0,029$; dieta \times droga (Covariable: Peso inicial): R Rao (4, 32) = 3,07; $p < 0,030$).

El ANOVA realizado para evaluar la ingesta de agua en la caja de mantenimiento indicó ausencia de efectos principales (dieta: $F(1, 20) = 0,03$; $p < 0,86$; droga: $F(1, 20) = 2,59$; $p < 0,12$) o interacción entre las variables estudiadas (dieta \times droga: $F(1, 20) = 0,08$; $p < 0,77$) aunque se observó una tendencia a disminuir el consumo de agua con DMI (Tabla V).

Sólo como dato complementario se informa que, en el pretest, el GC y el GH no se diferenciaron entre sí en las cuatro variables incorporadas al modelo (R Rao (4, 43) = 1,46; $p < 0,232$). Además, incorporando los desempeños en el pretest como covariables en el test, en un MANCOVA, los resultados de la interacción dieta \times droga no cambiaron (R Rao (4, 29) = 3,07; $p < 0,029$).

DISCUSIÓN

Los presentes resultados demuestran que las ratas controles y las hiponutridas

presentan una diferente reactividad a la DMI en el OFDT, considerando las diferentes conductas medidas como un parámetro único bajo un enfoque multivariado. Estudios previos con el OFDT (2, 11) o con otros modelos semejantes (15, 16) han tendido a resaltar una conducta en particular como la mejor indicadora de ansiedad. En el presente estudio, las conductas particulares mostraron un patrón cualitativo de cambio que se expresó, en las ratas hiponutridas, como un decremento en todas las conductas excepto en el tiempo de bebida con respecto a las ratas controles que mostraron, en general, un decremento en todas las conductas excepto en la frecuencia de acicalamiento. Esta última conducta, indicadora de una descarga motriz estereotipada, es un importante componente de la ansiedad (17) que no ha sido considerado de relevancia en los estudios de drogas antipánico y antidepresivos.

Teniendo en cuenta los estudios previos con DMI en ratas controles e hiponutridas, una semana de tratamiento con esta droga produce un efecto ansiógeno (o ausencia de efecto) en las ratas controles (13-16, 18, 19) y un efecto ansiolítico en las hiponutridas (4, 9). Este efecto de la

TABLA IV
CAÍDA EN PESO DURANTE EL EXPERIMENTO

Tratamiento	Grupo Control	Grupo Hiponutrido
Salina	-1,00 \pm 5,74	2,70 \pm 7,92
Desipramina	-19,79 \pm 6,08	-13,91 \pm 7,07

Diferencia en peso (g) durante el tratamiento con droga (Día 7-Día 1). Medias \pm DS. ANOVA: $p < 0,032$ (dieta). $p < 0,001$ (droga). $p < 0,614$ (Interacción dieta \times droga).

TABLA V
INGESTA DE AGUA EN EL AMBIENTE FAMILIAR

Tratamiento	Grupo control	Grupo hiponutrido
Salina	16,00 \pm 7,56	15,66 \pm 7,12
Desipramina	10,50 \pm 4,04	11,83 \pm 8,79

Diferencia en peso (g) de las botellas de agua en una hora de consumo en las cajas de mantenimiento. Medias \pm DS. ANOVA: $p < 0,86$ (dieta). $p < 0,12$ (droga). $p < 0,77$ (Interacción dieta \times droga).

DMI estaría mediado por el sistema noradrenérgico, a diferencia con las benzodiazepinas (8, 20, 21) y la respuesta ansiolítica en las ratas hiponutridas se produciría semanas antes que en las controles, en las cuales no siempre se produce esta respuesta con antidepresivos (22-25). Si esto es cierto, es posible que los presentes resultados hayan reflejado también dicho patrón ansiolítico selectivo para el GH. La diferente respuesta del GC y del GH para una semana de tratamiento (la velocidad de respuesta), representa un factor que no puede descuidarse en los estudios de desarrollo farmacológico (26, 27).

Las consecuencias de la hiponutrición perinatal persisten en la edad adulta aún luego de prolongados períodos de recuperación nutricional (28). Las diferencias observadas entre el GC y el GH en el peso inicial y en la caída en peso a lo largo del presente estudio, son un reflejo de ello. Aunque, seguramente, las ratas hiponutridas tuvieron mayor apetito que las controles por la necesidad de seguir recuperando el peso perdido, la interacción dieta \times droga en el OFDT fue independiente de este efecto. Lo mismo ocurrió para los efectos de la DMI sobre la ingesta de comida y sobre el peso (13, 29-31). Con respecto a la ingesta de agua en el ambiente familiar, los tratamientos no produjeron efecto.

Estudios clínicos muestran que algunos antidepresivos pueden ser más eficientes que las benzodiazepinas para aliviar la ansiedad asociada con el trastorno de pánico (1, 32-35). Sin embargo, los estudios animales con antidepresivos no han generado evaluaciones de conducta tan satisfactorias y confiables como las obtenidas con benzodiazepinas. Los presentes resultados permitirían dar un paso adelante en el estudio de la interacción compleja que se establece entre los componentes de la ansiedad involucrados en el OFDT, así como en el efecto que una droga antidepresiva, con un

tratamiento prolongado, puede ejercer sobre los mismos. No obstante, el significado del singular patrón de conductas explorado en este estudio sólo podrá ser dilucidado en la medida que otros investigadores procedan con el mismo enfoque y obtengan efectos semejantes, en particular con otras drogas antipánico más modernas.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Argentina). Los materiales de laboratorio, ratas, equipamiento y drogas) fueron provistos por el Departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

REFERENCIAS

1. **Shekhar A, McCann UD, Meaney MJ, Blanchard DC, Davis M, Frey KA, Liberzon I, Overall KL, Shear MK, Tecott LH, Winsky L.** Summary of a National Institute of Mental Health workshop: developing animal models of anxiety disorders. *Psychopharmacology* 2001; 157:327-339.
2. **Stout JC, Weiss JM.** An animal model for measuring behavioral responses to anxiogenic and anxiolytic manipulations. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 47:459-465.
3. **Dandiya PC, Kulkarni SK.** A study of the open field behavior as a single parameter. *Ind J Pharmac* 1975; 7:1-4.
4. **Viglicca NS, Molina SC, Peñalva MC.** A panic experimental model: Validation of a complex operant behavioral method in undernourished rats, with desipramine to provide a template effect profile. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2007; 55:49-57.
5. **Nasif FJ, Ramírez OA, Cuadra GR, Orsingher OA.** Increased neuronal activity in locus coeruleus from adult rats undernourished at perinatal age: Its reversal by desipramine. *Life Sci* 2001; 69:2551-2559.

6. **Keller EA, Munaro NI, Orsingher OA.** Peripheral undernutrition reduces alpha and beta adrenergic receptor binding in adult rat brain. *Science* 1982; 215:1269-1270.
7. **Marichich ES, Molina VA, Orsingher OA.** Persistent changes in central catecholaminergic system after recovery of perinatally undernourished rats. *J Nutr* 1979; 109: 1045-1050.
8. **Goddard AW, Charney DS.** Toward an integrated neurobiology of panic disorder. *J Clin Psychiatry* 1997; 58:4-11.
9. **Laino NE, Córdoba NE, Orsingher OA.** Perinatally protein-deprived rats and reactivity to anxiolytic drugs in the plus-maze test: An animal model for screening antipanic agents? *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 46:89-94.
10. **Sodero AO, Valdomero A, Cuadra GR, Ramírez OA, Orsingher OA.** Locus coeruleus activity in perinatally protein-deprived rats: effects of fluoxetine administration. *Eur J Pharmacol* 2004; 503:35-42.
11. **Sodero AO.** Hiponutrición perinatal y funcionalidad noradrenérgica y serotoninérgica en el sistema nervioso central. Efecto de la administración repetida de fluoxetina. [Tesis Doctoral] Córdoba (Argentina): Universidad Nacional de Córdoba; 2004.
12. **Borghese CM, Córdoba NE, Laino CH, Orsingher OA, Rubio MC, Niselman V.** Lack of tolerance to the anxiolytic effect of diazepam and pentobarbital following chronic administration in perinatally undernourished rats. *Brain Res Bull* 1998; 46:237-244.
13. **Beaufour CC, Ballon N, Le Bihan C, Hamon M, Thiébot MH.** Effects of chronic antidepressants in an operant conflict procedure of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 62:591-599.
14. **Commissaris RL, Ellis DM, Hill TJ, Schefke DM, Becker CA, Fontana DJ.** Chronic antidepressant and clonidine treatment effects on conflict behavior in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 37:167-176.
15. **Bodnoff SR, Suranyi-Cadotte B, Aitken DH, Quirion R, Meaney MJ.** The effects of chronic antidepressant treatment in an animal model of anxiety. *Psychopharmacology* 1988; 95:298-302.
16. **Bodnoff SR, Suranyi-Cadotte, Quirion R, Meaney MJ.** A comparison of the effects of diazepam versus several typical and atypical anti-depressant drugs in an animal model of anxiety. *Psychopharmacology* 1989; 97:277-279.
17. **Audet MC, Goulet S, Dore FY.** Repeated subchronic exposure to phenylcyclidine elicits excessive atypical grooming in rats. *Behav Brain Res* 2006; 167:103-110.
18. **Fontana DJ, Commissaris RL.** Effects of acute and chronic imipramine administration on conflict behavior in the rat: a potential "animal model" for the study of panic disorder? *Psychopharmacology* 1988; 95:147-150.
19. **Fontana DJ, Carbary TJ, Commissaris RL.** Effects of acute and chronic anti-panic drug administration on conflict behavior in the rat. *Psychopharmacology* 1989; 98:157-162.
20. **Charney DS, Heninger GR, Breier A.** Noradrenergic function in panic anxiety. *Arch Gen Psychiatry* 1984; 41:751-763.
21. **Fontana DJ, McMiller LV Jr, Commissaris RL.** Depletion of brain norepinephrine: differential influence on anxiolytic treatment effects. *Psychopharmacology* 1999; 143:197-208.
22. **Beardslee SL, Papadakis E, Fontana DJ, Commissaris RL.** Antipanic drug treatments: Failure to exhibit anxiolytic-like effects on defensive burying behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 35:451-455.
23. **File SE.** Animal models for predicting clinical efficacy of anxiolytic drugs: social behaviour. *Neuropsychobiology* 1985; 13:55-62.
24. **File SE, Johnston AL.** Chronic treatment with imipramine does not reverse the effects of three anxiogenic compounds in a test of anxiety in the rat. *Neuropsychobiology* 1987; 17: 189-192.
25. **Silva RCB, Brandao ML.** Acute and chronic effects of gepirone and fluoxetine in rats tested in the elevated-plus-maze: an ethological analysis. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 65:209-216.

26. **Kats MM, Houston JP, Brannan S, Bowden CL, Berman N, Swann AC, Frazer A.** A multivantaged behavioural method for measuring onset and sequence of the clinical actions of antidepressants. *Int J Neuropsychopharmacol* 2004; 7:471-479.
27. **Kats MM, Tekell JL, Bowden CL, Brannan S, Houston JP, Berman N, Frazer A.** Onset and early behavioral effects of pharmacologically different antidepressants and placebo in depression. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29:566-579.
28. **Morgane P, Miller M, Kemper T, Stern W, Forbes W, Hall R, Bronzino J, Kissane J, Hawrylewicz E, Resnick O.** The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 1978; 2:137-230.
29. **Nobrega JN, Coscina DV.** Effects of chronic amitriptyline and desipramine on food intake and body weight in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 27:105-112.
30. **Lucki I, Frazer A.** Performance and extinction of lever press behavior following chronic administration of desipramine to rats. *Psychopharmacology* 1985; 85:253-259.
31. **Durcan MJ, McWilliam JR, Campbell IC, Neale MC, Dunn G.** Chronic antidepressant drug regimes and food and water intake in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1988; 30:299-302.
32. **Stahl SM.** Antidepressivos y estabilizadores del estado de ánimo. Ansiolíticos y sedantes hipnóticos. Tratamientos farmacológicos para el trastorno obsesivo compulsivo, el trastorno de pánico y los trastornos fóbicos. En: Stahl SM, Ed. *Psicofarmacología Esencial*. Barcelona: Ariel Neurociencia. 1998. P147-281.
33. **Sheehan DV.** The management of panic disorder. *J Clin Psychiatry* 2002; 63 Sup 14: 17-21.
34. **Suranyi-Cadotte BE, Bodnoff SR, Welner SA.** Antidepressant-anxiolytic interactions: involvement of the benzodiazepine-GABA and serotonin systems. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1990, 14, 633-654.
35. **Ham P, Waters DB, Oliver MN.** Treatment of panic disorder. *Am Fam Physician* 2005; 71:733-739.