



Administración oral a largo plazo del extracto de *Montanoa tomentosa* y su efecto en ratas forzadas a nadar

Ma. de Jesús Roviroso-Hernández¹, Lina Monserrat Martínez-Flores², Juan Francisco Rodríguez-Landa¹, Francisco García-Orduña¹, Omar Lagunes-Merino², Abril de los Ángeles Aguilar-Tirado², Miguel Carro-Juárez².

¹Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz. CP 91190, México, jroviroso@uv.mx, juarodriguez@uv.mx, fragarcia@uv.mx.

²Posgrado en Neuroetología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz. CP 91190, México, li-bre@hotmail.com, omarlagunes@hotmail.com, abrilati@hotmail.com.

³Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, Tlaxcala, CP 90000. México, miguel_carro@hotmail.com.

RESUMEN

Introducción. *Montanoa tomentosa* (*Mt*) es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana como remedio para los impedimentos reproductivos y trastornos del estado emocional y de ánimo. La administración aguda del extracto acuoso de *Mt* en la rata, produce efectos parciales anti-estrés en la prueba de nado forzado. Sin embargo, el efecto de la administración crónica de este extracto no ha sido explorado. **Objetivo.** Evaluar el efecto conductual producido por la administración crónica (28 días) del extracto acuoso de *Mt* en ratas forzadas a nadar y comparar el efecto con el producido por Fluoxetina (Flx) un antidepresivo clínicamente eficaz. **Método.** Se incluyeron 24 ratas macho Wistar en tres grupos a los cuales se les administró durante 28 días; 1) Vehículo (Vh) el cual recibió 1 mL/Kg de agua purificada; 2) *Montanoa tomentosa* (*Mt*) que recibió 50 mg/Kg/mL del extracto acuoso de la planta; y 3) Fluoxetina (Flx) que recibió 1 mg/Kg/mL. Los efectos fueron evaluados 30 minutos después de la última administración en las pruebas de campo abierto y nado forzado. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de una vía y la prueba *post hoc* de Tukey. **Resultados.** En la prueba de nado forzado, flx redujo significativamente ($p < 0.05$) el tiempo total de inmovilidad con respecto al grupo Vh, sin embargo *Mt* mostró un decremento aunque éste no fue significativo. Ninguno de los tratamientos modificó la latencia al primer período de inmovilidad, aunque se observó una tendencia a incrementar en los grupos *Mt* y Flx. En campo abierto, ninguno de los tratamientos modificó la locomoción con respecto al Vh. **Conclusión.** La administración crónica de *Mt*, puede ejercer un efecto tipo antidepresivo en ratas forzadas a nadar, aunque menor al producido por Flx. Estos datos sugieren el potencial efecto de *Mt* en el control de los estados emocionales que se le han atribuido en la medicina tradicional.

INTRODUCCIÓN

La depresión es un trastorno psiquiátrico que se caracteriza por alteraciones del humor o estado de ánimo (1). Un elemento clave en el desarrollo de la depresión es la respuesta alterada ante el estrés (2). Si esta respuesta es mantenida por largo plazo puede tener efectos perjudiciales incrementando el riesgo no sólo a la depresión, sino también a una serie de padecimientos o enfermedades que podrían causar la muerte (2). En la actualidad, se emplean diversos fármacos para el tratamiento de los trastornos depresivos como son los inhibidores de la recaptura de serotonina (IRS), cuyo uso conlleva algunos efectos adversos que limitan su uso a largo plazo. Es por ello que la investigación de productos naturales surge como alternativa al uso de fármacos sintéticos (3).

La infusión de *M. tomentosa* ha sido usada desde hace más de 500 años para el control del estado de ánimo y otros padecimientos (4). Se ha reportado que el extracto de *Mt* ejerce



propiedades tipo ansiolítico (5,6) y parcial efecto antiestrés en la prueba de nado forzado (7), que al parecer se asocia con la actividad oxitocinérgica que regula la respuesta al estrés (8). El objetivo del presente estudio fue determinar si la administración oral crónica del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa*, ejerce un efecto antidesesperanza similar al antidepressivo fluoxetina en la prueba de nado forzado.

2. TEORIA

Depresión y uso de plantas medicinales.

La depresión se caracteriza por un estado de ánimo decaído o pérdida de interés y de anhedonia, los cuales pueden ser desencadenados por factores psicosociales, genéticos o biológicos. Los sujetos que sufren depresión generalmente presentan un deterioro variable en su funcionamiento social, familiar y laboral, por lo que la depresión es considerada un serio problema de salud pública, sugiriéndose que en pocos años ésta será la segunda enfermedad discapacitante a nivel mundial (9). Las personas que sufren este trastorno a menudo recibe como tratamiento antidepressivos sintéticos; sin embargo éstos pueden producir efectos secundarios como; retardo psicomotor, sequedad de boca, estreñimiento y disfunción sexual (10), entre otros. Como terapia alternativa, las plantas pueden ofrecer una posible alternativa terapéutica. (11).

Montanoa tomentosa.

En la medicina tradicional mexicana, existen plantas de gran utilidad en el tratamiento de diferentes padecimientos reproductivos en la mujer, incluidos los del estado emocional y afectivo (12). El zoapatle nombre común de la *Montanoa tomentosa*, es también conocida como "cihuapatli"; palabra que en lengua náhuatl sintetiza dos vocablos: (cihuatl – mujer y patli – medicina, 13). La infusión de *M. tomentosa* ha sido usada desde la época prehispánica, como un remedio para diversos padecimientos en la mujer, como: inductor del parto, estimulador de la lactancia y la menstruación; así como para el tratamiento de desordenes nerviosos y del estado de ánimo (4). La administración oral aguda del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* (*Mt*), produce un efecto tipo ansiolítico similar al diazepam (6) y un efecto parcial antidesesperanza en la prueba de nado forzado (7). Por consiguiente, nos propusimos evaluar el efecto producido por la administración crónica (28 días) del extracto acuoso de *Mt* en ratas forzadas a nadar y compararlo con un antidepressivo clínico como Fluoxetina.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron 24 ratas macho de la cepa Wistar, con un peso aproximado de 250 ± 25 g, las cuales se mantuvieron en cajas de acrílico translúcido (40 x 33 x 20 cm) con una cama de aserrín de aproximadamente 4 cm de espesor. Los animales fueron mantenidos, en un bioterio con temperatura controlada, con ciclo normal de luz-oscuridad (12 x 12hrs), y con agua y alimento *ad libitum*. Todas las manipulaciones experimentales se realizaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (14), en lo relativo a las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio, y conforme a los lineamientos éticos internacionales basados en la Guía de cuidado y uso de animales de laboratorio publicado por el National Research Council (15). Adicionalmente, se tomaron en cuenta las recomendaciones del Código Ético del Instituto de Investigación Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México para el uso de animales en la experimentación biomédica. Se formaron tres grupos experimentales, los cuales recibieron el tratamiento por vía oral diariamente durante 28 días bajo el siguiente esquema: **Grupo 1** Vehículo (n = 8): A cada individuo se le administró una dosis 1mL/Kg de agua purificada. **Grupo 2** *Montanoa tomentosa* (n=8): A cada individuo se le administró una dosis de 50 mg/Kg/mL de extracto acuoso de *M. tomentosa*. **Grupo 3** Fluoxetina (n = 8): a cada individuo se le administró una dosis de 1 mg/Kg/mL de fluoxetina. El último día de la administración 30 minutos después de ésta, los individuos fueron evaluados en las pruebas de campo abierto y nado forzado.



Extracto acuoso de *Montanoa tomentosa*.- Las hojas de *Montanoa tomentosa* fueron recolectadas cerca de Tlaxcala. Posterior a su autenticación, fueron secadas durante 20 días y se molieron. Para la preparación del extracto se agregó 1gr de hojas secas pulverizadas en 20ml de agua purificada a punto de ebullición, se dejó reposar hasta alcanzar la temperatura ambiente y se filtró. El extracto fue preparado una hora antes de la administración de los animales, a los cuales se les administró una dosis de 50 mg/Kg/mL, por vía oral, durante 28 días.

Fluoxetina.- Para la administración de fluoxetina se mezcló el contenido de una cápsula de Prozac (20mg c.b.p.), y se diluyó en 20ml de agua purificada. Después de la preparación se administró de manera oral, durante 28 días en una dosis de 1 mg/Kg/mL.

Prueba de campo abierto.- La rata fue colocada en una caja de acrílico opaca de 44 x 33 x 20 cm cuya base fue dividida en cuadros de 11 x 11 cm donde se colocaron 30 minutos después de recibir el tratamiento correspondiente a cada grupo, durante 5 minutos y antes de la prueba de nado forzado. En esta prueba se evaluó el número de cuadros cruzados (cc), tomando como criterio que la rata pasará al menos tres cuartas partes de su cuerpo de un cuadro a otro. Esta prueba se realizó para identificar o descartar efectos motores que pudieran interferir en la prueba de nado forzado (16).

Prueba de nado forzado.- La rata fue colocada en un estanque rectangular de cristal (30 x 20 x 50 cm) con agua a temperatura de $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, donde no existió la posibilidad de escape, el nivel de agua dependió de la longitud del animal de manera que le permitió tocar el fondo del estanque con la cola o la punta de las patas posteriores manteniendo las narinas por arriba del nivel de agua del estanque. En la primera sesión (pre-prueba), la rata permaneció en el agua durante 15 min, con lo que se indujo un estado de desesperanza, caracterizado por la presencia de inmovilidad. 24 horas después de la sesión de pre-prueba, el animal fue colocado nuevamente en el agua y videograbado por cinco minutos. Durante este período, se registró la latencia a la primera inmovilidad, que corresponde al tiempo que transcurre desde que la rata se introdujo al estanque, hasta que presentó el primer período de inmovilidad. Asimismo, se contabilizó el tiempo total de inmovilidad, es decir, la suma de los períodos de inmovilidad ocurridos durante los cinco minutos; considerando todos aquellos períodos, mayores a dos segundos, en los que el animal se mantiene a flote realizando los movimientos mínimos, sin desplazarse y que le permiten mantener la cabeza por encima del nivel de agua. El aumento en la duración de la conducta activa de nado, y la consiguiente disminución del tiempo de inmovilidad son considerados como perfiles consistentes con un efecto tipo antidepressivo (17). Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para grupos independientes, con una prueba *post hoc* de Tukey. Aceptando una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa, los datos son presentados como la media \pm error estándar.

Actividad locomotriz.- En la prueba de campo abierto no hubo diferencias estadísticas ($F_{(2,23)}=0.930$, $p < 0.460$) en el número de cuadros cruzados por los animales entre los diferentes tratamientos (Figura 1).

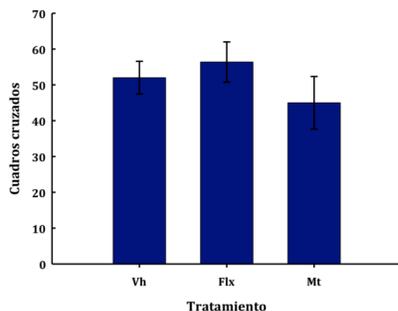


Figura 1. Número de cuadros cruzados. Ninguno de los tratamientos modificó esta variable ANOVA de una vía *post hoc* Tukey. Vehículo, Vh; Fluoxetina, Flx; *Montanoa tomentosa*, Mt.



Nado Forzado

Latencia a la primera inmovilidad.- No se encontraron diferencias significativas ($F_{(2,23)}=0.751$, $p<0.484$) entre los tratamientos, aunque se observó una tendencia a incrementar en los grupos *Montanoa* y fluoxetina (Figura 2).

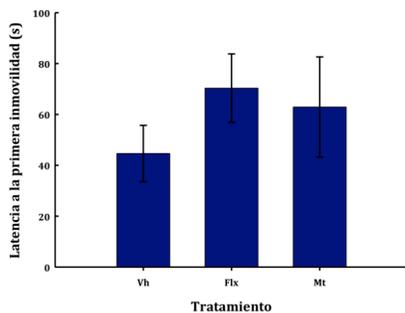


Figura 2. Latencia a la primera inmovilidad. No se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos Vehículo (Vh), Fluoxetina (Flx), *Montanoa* (Mt). ANOVA de una vía *post hoc* Tukey.

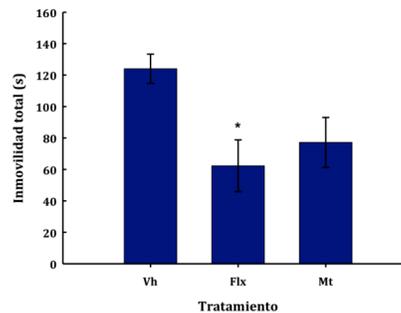


Figura 3. Tiempo total de inmovilidad. El tratamiento con Fluoxetina (Flx) y *Montanoa* (Mt), redujeron el tiempo total de inmovilidad con respecto al Vehículo (Vh). Se observó un incremento en la inmovilidad total de los individuos del grupo Flx con respecto a los del grupo Vh ANOVA de una vía, *post hoc* Tukey.

Tiempo total de la inmovilidad.- Se encontraron diferencias significativas ($F_{(2,23)}=4.962$, $p<0.017$) entre los tratamientos. El tratamiento con Fluoxetina redujo significativamente el tiempo total de inmovilidad con respecto al Vehículo. El extracto de *Mt* redujo el tiempo total de la inmovilidad aunque no fue tan acentuado como el de Flx (Figura 3).

4. CONCLUSIONES

La administración oral crónica por 28 días de 50mg/Kg del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* no mostró un efecto significativo sobre la latencia a la primera inmovilidad, ni sobre el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado. Sin embargo muestra una tendencia a reducir el tiempo total de inmovilidad parecida al antidepresivo Fluoxetina. Estos resultados sugieren que la infusión de *Mt* ejerce un efecto tipo antidepresivo en ratas forzadas a nadar, aunque menor al producido por Flx. Estos datos sustentan el potencial efecto benéfico en el control de las alteraciones del estado emocional y afectivo atribuido al extracto de *Mt* en la medicina tradicional mexicana.

AGRADECIMIENTOS

Lina Monserrat Martínez-Flores (LMMF), Omar Lagunes Merino (OLM) y Abril de los Ángeles Aguilar Tirado (AAAT) recibieron beca del CONACYT para estudios de Maestría (LMMF) y (OLM, AAAT) de Doctorado en Neuroetología (Registro 337257, 239772 y 235957, respectivamente). El trabajo fue apoyado con recursos parciales del Programa de Fortalecimiento Académico del Posgrado de Alta Calidad I010/458/2013, C-703/2013.

BIBLIOGRAFIA

1. A. Sequeira-Cordero, J. Fornaguera-Trias "Neurobiología de la depresión", Rev. Mex. Neuroc., Vol. 10, 6, 2009, pp. 462-478.



2. D. F. Swaab, A. M. Bao, P. J. Lucassen, "The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration", *Ageing. Res. Rev.*, Vol. 4, 2005, pp. 141-94.
3. J. Sarris, A. Panossian, I. Schweitzer, C. Stough, A. Scholey, "Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: A review of psychopharmacology and clinical evidence". *Europ. Neuropsychol.*, Vol. 21, 2011, pp. 841-860.
4. S.D. Levine, D.W. Hahn, M.L. Cotter, F.C. Greenslade, R.M. Kanojia, S.A. Pasquale, M. Wachter, J.L. Mcguire, "The mexican plant zoapatle (*Montanoa tomentosa*) in reproductive medicine. Past, present and future", *J Reprod Med*, Vol. 26, 1981 pp. 524-528.
5. JF. Rodríguez-Landa, M.G. Rodríguez-Santiago, MJ. Rovirosa-Hernández, F. García-Orduña, M. Carro-Juárez, "Aqueous Crude Extract of *Montanoa tomentosa* Exerts Anxiolytic-Like Effects in Female Rats With Long-Term Absence of Ovarian Hormones". *J Chem Biol Physical Sciences*. Vol. 4, No. 3(II) 2014, Special Issue.
6. I. Sollozo-Dupond, E. Estrada-Camarena, M. Carro-Juárez, C. López-Rubalcava, "GABA_A/benzodiazepine receptor complex mediates the anxiolytic-like effect of *Montanoa tomentosa*". *J Ethnopharma*, Vol. 162, 2015, pp. 278-286.
7. O. Lagunes-Merino, "Efecto de la administración oral aguda del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* sobre la activación de células oxitocinérgicas del hipotálamo de la rata Wistar forzada a nadar". Tesis Doctoral en Neuroetología. Doctorado en Neuroetología, UV. 2015, pp. 108
8. K. Uvnäs-Moberg, M. Petersson, "Oxytocin, a mediator of anti-stress, well-being, social interaction, growth and healing". *Z. Psychosom Med Psychother*, Vol. 51,1, 2005, pp. 57-80
9. WHO, "World Health Organization. The world Health Report 2001: Mental Health—New Understanding", New Hope. *World Health Organizat, Geneva*. 2001.
10. E. Richelson, "Pharmacology of antidepressants – characteristic of the ideal drug". *Mayo Clin Proc*, Vol. 69, 1994, pp. 1069 – 1081.
11. J. Sarris, A. Panossian, I. Schweitzer, C. Stough, A. Scholey, "Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence" *Europ. Neuropsychol.*, Vol. 21, 2011, pp. 841–860.
12. M.M. Goonasekera, V.K. Gunawardana, K. Jayasena, S.G. Mohammed, S. Balasubramaniam, Pregnancy terminating effect of *Jatropha curcas* in rats. *J. Ethnopharmacol*, Vol. 47, 1995, pp. 117–123.
13. Bejar, E. "El efecto de la decocción de *Montanoa tomentosa* ssp. *tomentosa* (zoapatle) y de su constituyente activo el ácido grandiflorenico sobre la contractilidad uterina". Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana UAT-Ixtapalapa, 1985, 24-28.
14. NOM-062-ZOO-1999 "Norma Oficial Mexicana. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio". México, D.F. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*
15. National Research Council Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington DC, 1996. publication no. 85-23
16. S. Wieland, I. Lucki, "Antidepressant-like activity of 5-HT_{1A} agonist measured with the forced swim test". *Psychopharmacol*, Vol. 101, 1990, pp. 497 – 504.
17. J.F. Cryan, I. Lucki, "Assesing antidepressant activity in rodents: recent developments and future need". *TIPS* Vol. 23. 2002, pp. 238 – 245.