

Diferencias sexuales en el efecto hipnótico de la propanidida en ratones

Sex differences in propanidid sleeping time in mice

XIMENA ACEVEDO, CARLOS MUÑOZ, GUILLERMO RAGNI

Departamento de Farmacología, Sede Santiago Norte, Universidad de Chile, Casilla 16387, Santiago, Chile

(Recibido para publicación el 12 de diciembre de 1974)

ACEVEDO, X.; MUÑOZ, C.; RAGNI, G. Diferencias sexuales en el efecto hipnótico de la propanidida en ratones. (Sex differences in propanidid sleeping time in mice). Arch. Biol. Med. Exper. 11:80-84, 1978.

Propanidid (200 mg/kg i.p.) induced sleep in a significantly larger proportion of male than in female mice. However in those animals where sleep was produced, the latency and duration were similar in both sexes. The difference observed was suppressed by gonadectomy and reestablished after treatment with testosterone but not with estradiol. There was no significant difference in the effect of 400 mg/kg i.p. of propanidid in both sexes. Pretreatment with proadifen did not change the different proportion of animals where sleep was induced in male and female mice with 200 mg/kg i.p. of propanidid, no matter that the latency and duration were considerably increased,

PROPANIDID
ANAESTHETICS

SEX DIFFERENCES
PROADIFEN

SLEEPING TIME
MICE

En estudios realizados en este Departamento acerca del efecto anestésico de la propanidida en ratones, se observó que aparentemente los machos presentaban una mayor sensibilidad que las hembras a la acción depresora del sistema nervioso central de este fármaco. Nos pareció de interés confirmar la existencia de esta diferente sensibilidad en ratones de ambos sexos y avanzar en el estudio del mecanismo respectivo.

En la mayor parte de los trabajos acerca de diferencias sexuales en la sensibilidad a fármacos, se ha comprobado que ella está relacionada con las enzimas que transforman a esos fármacos y que la distinta actividad enzimática depende de la función de las gónadas (1-3). Por este motivo nos interesó estudiar el efecto de la propanidida en animales tratados con un inhibidor de esterasas microsómicas, el proadifen (SKF-525-A) (4, 5). Para precisar la participación de las gónadas, en nuestros experimentos se comparó el efecto de la propanidida en ratones normales y gonadectomizados

de ambos sexos y en gonadectomizados a los que se administraron hormonas sexuales.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratones blancos del linaje As/W, cuyos pesos fluctuaron entre 20 y 30 g. En cada grupo de experimentos se empleó un número semejante de machos y hembras. Los ensayos en animales castrados fueron realizados entre 26 y 28 días después de la gonadectomía.

Se estudió el sueño ocasionado por inyección i.p. de 200 y 400 mg/kg de propanidida. Las dosis inferiores fueron inefectivas en la mayoría de los animales. Se determinó en cada caso la latencia en segundos desde el momento de la inyección hasta la pérdida del reflejo postural y la duración del sueño también en segundos hasta la reaparición de este reflejo.

Los grupos experimentales consistieron en: a) animales normales; b) animales castrados; c) animales castrados tratados con hormonas sexuales, y d) animales normales tratados previamente con proadifen (SKF-525-A). El tratamiento hormonal consistió en la inyección diaria, por vía subcutánea, de testosterona (0,1 mg) a los machos y estradiol (0,1 µg) a las hembras durante 5 días consecutivos. El efecto de la propanidida se estudió en estos animales al día siguiente de terminado el tratamiento.

El proadifen se administró en dosis de 25 mg/kg i.p. 30 minutos antes de la propanidida.

SUSTANCIAS EMPLEADAS

Propanidida: Fabantol Bayer, solución al 5%.
Testosterona propionato, solución oleosa.
Estradiol benzoato, solución oleosa.
Proadifen (SKF-525-A Smith, Kline and French Labs.) en solución acuosa.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos por la administración de propanidida 200 y 400 mg/kg en animales normales y gonadectomizados sin y con tratamiento hormonal aparecen en las tablas I y II, respectivamente.

ANIMALES NORMALES

La administración de propanidida 200 mg/kg i.p. en ratones normales produjo sueño en una proporción mucho mayor en los machos que en las hembras, 29 de 40 y 13 de 45, respectivamente (tabla I), diferencia que es altamente significativa ($\chi^2 = 22,2$; $P < 0,001$). La latencia fue mayor en los machos ($P < 0,05$) y también la duración, pero esta última diferencia no fue significativa.

Con la dosis de 400 mg/kg la propanidida produjo sueño en prácticamente todos los animales de ambos sexos (tabla II) y en ellos la latencia y la duración del efecto hipnótico fueron semejantes en machos y hembras. La duración del sueño con esta dosis fue mucho más prolongada y la latencia menor que con 200 mg/kg.

TABLA I

Estudio del sueño ocasionado por la administración de propanidida (200 mg/kg i.p.) en ratones de ambos sexos.

Sexo	Condición	N*	Sueño	
			Latencia** seg	Duración** seg
M	Normal	29/40	79 ± 4,4	130 ± 9,8
F	Normal	13/45	68 ± 5,2	112 ± 7,5
M	Gonadectomía	7/40	80 ± 6,1	94 ± 17,1
F	Gonadectomía	3/40	108 ± 8,7	60 ± 26,2
M	Gonadectomía + Testosterona***	25/39	71 ± 3,7	103 ± 8,3
F	Gonadectomía + Estradiol***	5/39	65 ± 7,3	89 ± 24,5

*Número de animales en que se produjo sueño sobre el total de animales inyectados.

**Media aritmética ± error típico de los casos en que se produjo sueño.

***Testosterona propionato, 0,1 mg/día durante 5 días. Estradiol benzoato, 0,1 µg/día durante 5 días.

TABLA II

Estudio del sueño ocasionado por la administración de propanidida (400 mg/kg i.p.) en ratones de ambos sexos.

Sexo	Condición	N*	Sueño	
			Latencia** seg	Duración** seg
M	Normal	31/32	57 ± 2,8	254 ± 21,3
F	Normal	20/23	56 ± 2,7	228 ± 22,3
M	Gonadectomía	24/24	66 ± 5,1	151 ± 11,6
F	Gonadectomía	32/35	63 ± 3,1	178 ± 6,5
M	Gonadectomía + Testosterona***	25/25	53 ± 1,8	288 ± 13,4
F	Gonadectomía + Estradiol***	27/28	59 ± 2,4	203 ± 13,8

*Número de animales en que se produjo sueño sobre el total de animales inyectados.

**Media aritmética ± error típico de los casos en que se produjo sueño.

***Testosterona propionato, 0,1 mg/día durante 5 días. Estradiol benzoato, 0,1 µg/día durante 5 días.

ANIMALES GONAECTOMIZADOS

En la tabla I aparecen los resultados obtenidos en este grupo de animales con la dosis de 200 mg/kg de propanidida. En ella puede observarse que el número de animales gonadectomizados en los que se produjo sueño fue considerablemente menor que en los normales (7 de 40 machos y 3 de 40 hembras), diferencia que es significativa en los machos ($\chi^2 = 34$; $P < 0,001$ con respecto a los machos normales) y también en las hembras ($\chi^2 = 3,9$; $P < 0,05$ con respecto a las hembras normales); en cambio, la proporción de machos y hembras castrados en que se produjo sueño no difirió significativamente. Debido al escaso número de animales gonadectomizados en que se observó sueño, la comparación de los restantes parámetros del efecto hipnótico de la propanidida tiene escasa significación. Llama solamente la atención el importante aumento del tiempo de latencia en las hembras castradas.

Los resultados obtenidos con la dosis de 400 mg/kg de propanidida en animales gonadectomizados aparecen en la tabla II. Se observa que esta dosis de propanidida produjo sueño prácticamente en todos los animales de ambos sexos, lo que difiere de los resultados en los animales normales, pero en cambio la duración del sueño fue significativamente menor en los ratones gonadectomizados de ambos sexos (machos, $P < 0,001$ y hembras, $P < 0,05$).

ANIMALES GONAECTOMIZADOS SOMETIDOS A TRATAMIENTO HORMONAL

La administración de la hormona sexual correspondiente a los animales castrados influyó de manera diferente en la respuesta a 200 mg/kg

de propanidida en machos y hembras (tabla I). En efecto, en los machos castrados la administración de testosterona elevó la proporción de casos en que la propanidida indujo sueño a un nivel semejante al de los machos normales (25 de 39 en machos gonadectomizados; 29 de 40 machos normales); en cambio, en las hembras castradas que recibieron estradiol la proporción no varió con respecto a las hembras gonadectomizadas sin tratamiento hormonal (5 de 39 y 3 de 40, respectivamente). El tiempo de latencia aparece reducido hasta el nivel de las hembras normales en las gonadectomizadas tratadas con estradiol, pero debemos insistir en que el número de casos en que hubo efecto hipnótico fue muy reducido para que esta afirmación sea valedera.

El tratamiento hormonal en los ratones gonadectomizados de ambos sexos que fueron inyectados con 400 mg/kg de propanidida (tabla II) restableció la duración del sueño a valores semejantes a los respectivos de los animales normales.

INFLUENCIA DEL PROADIFEN (SKF 525-A)

La administración previa de proadifen (25 mg/kg i.p.) no modificó significativamente la proporción de animales en que se produjo sueño con 200 y 400 mg/kg de propanidida (tabla III). En efecto, con la dosis menor de propanidida hubo una proporción significativamente mayor de machos que de hembras en que se produjo sueño ($\chi^2 = 12,85$, $P < 0,0005$), proporción que no difiere de la observada en ratones normales que no recibieron proadifen. Con la dosis de 400 mg/kg de propanidida se produjo sueño en la totalidad de los animales tratados con proadifen (tabla III) lo que tampoco difiere de los resul-

TABLA III

Influencia de la administración previa de Proadifen (25 mg/kg i.p.) en el sueño ocasionado por inyección de propanidida i.p. en ratones normales de ambos sexos.

Propanidida mg/kg	Animales		Latencia** seg	Sueño	
	Sexo	N*		Duración** seg	
200	M	27/30	106 ± 1,6		258 ± 24,1
200	F	14/30	111 ± 4,8		162 ± 19,7
400	M	25/25	63 ± 2,3		596 ± 22,4
400	F	25/25	76 ± 3,8		378 ± 33,8

*Número de animales en que se produjo sueño sobre el total de animales inyectados.

**Media aritmética ± su error típico de los casos en que se produjo sueño.

tados obtenidos con esta dosis del anestésico en animales normales.

Con respecto a las características del sueño observado en estos grupos experimentales (tabla III), es interesante señalar que la duración fue significativamente mayor a la obtenida por la dosis respectiva en animales normales ($t = 4,92$; $P < 0,0005$ y $t = 11,06$; $P < 0,0005$ en machos con 200 y 400 mg/kg de propanidida, respectivamente; $t = 2,373$, $P < 0,025$ y $t = 3,70$; $P < 0,0005$ en hembras con 200 y 400 mg/kg de propanidida, respectivamente). Además, la duración del sueño en los animales pretratados con proadifen fue mucho más prolongada en los machos que en las hembras ($t = 3,084$; $P < 0,0025$ y $t = 5,37$; $P < 0,0005$ para 200 y 400 mg/kg de propanidida, respectivamente).

Es interesante señalar también que la latencia en los animales de ambos sexos que recibieron proadifen fue significativamente mayor en ambos sexos con 200 mg/kg de propanidida ($t = 5,76$ en machos; $6,08$ en hembras; $P < 0,0005$ en ambos casos). Con 400 mg/kg del anestésico la latencia fue algo más prolongada que en los animales normales pero la diferencia sólo fue significativa en las hembras ($t = 4,26$ $P < 0,0005$).

DISCUSION

Los resultados demuestran que los ratones machos son más sensibles que las hembras a la acción hipnótica de la propanidida; que esta diferencia se mantiene cuando se inhiben las esterasas microsómicas pero desaparece por la castración. La administración de testosterona en machos gonadectomizados restableció la sensibilidad a la propanidida; en cambio el estradiol no modificó el menor efecto del anestésico en las hembras castradas.

Se sabe que el efecto de la propanidida desaparece rápidamente por hidrólisis enzimática (6, 7), lo que concuerda con la necesidad de emplear en nuestros experimentos dosis muy elevadas de propanidida por vía intraperitoneal para obtener efecto hipnótico, debido a que el anestésico es inactivado en gran proporción en el hígado. Por otra parte, la prolongación del efecto hipnótico en los animales pretratados con proadifen, inhibidor de enzimas microsómicas, concuerda con este mecanismo.

Es importante destacar que la diferencia

sexual observada consistió fundamentalmente en una proporción mayor de machos en que se produjo sueño con una dosis de 200 mg/kg de propanidida, mientras que cuando este efecto se produjo, su duración no difirió significativamente en ratones normales de ambos sexos. Con la dosis de 400 mg/kg de propanidida no se observó, en cambio, diferencias ni en la proporción de animales en que se produjo sueño ni en su duración. Estos resultados no pueden explicarse por una diferencia en los sistemas enzimáticos que inactivan a la propanidida en machos y hembras, porque en ese caso habría que aceptar que en las hembras la inactivación es mayor y el tratamiento con proadifen debería reducir o suprimir esta diferencia. Sin embargo, el proadifen no modificó la proporción de animales en que se produjo sueño, si bien alargó la latencia y la duración en aquellos en que el efecto se observó. Parece también extraño que la testosterona aumente la sensibilidad a la propanidida en machos castrados, puesto que esta hormona en general estimula la formación de enzimas que inactivan fármacos, lo que habría producido el efecto opuesto.

La posibilidad de una activación enzimática de la propanidida parece improbable dada la gran rapidez con que produce su efecto cuando se inyecta por vía venosa, y no se compadece con el aumento de duración de la hipnosis observada después de tratamiento con proadifen.

Nos parece posible que los resultados obtenidos sean debidos a diferencias en algunos de los factores que intervienen en el transporte del fármaco desde el sitio de inyección hasta el sistema nervioso central en uno y otro sexo. Esta hipótesis requiere confirmación experimental.

El aumento de duración del sueño ocasionado por propanidida en animales que recibieron previamente proadifen confirma que el anestésico es inactivado en el hígado, con toda probabilidad por esterasas microsómicas, que son inhibidas preferentemente por proadifen (4, 5).

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Laboratorio Bayer por la donación de propanidida (Fabantol[®]) y a Smith, Kline and French Labs. por proporcionarnos SKF 525-A (Proadifen).

SUMMARY

The duration of sleep induced with propanidid in mice of both sexes was studied. The drug induced sleep in a significantly larger proportion of males receiving a dose of 200 mg/kg i.p. (table I), but in those animals where sleep was produced, the duration and latency were similar in both sexes. This difference disappeared in gonadectomized mice but was reestablished in males treated with testosterone. Estradiol did not influence the sleeping time of propanidid in gonadectomized female mice.

With 400 mg/kg i.p. of propanidid no significant differences in the sleeping time between sexes was observed. With this dose the duration of sleep in gonadectomized mice was shorter than in normals, but this difference disappeared after treatment with the corresponding sex hormone (table II).

Pretreatment with proadifen (SKF 525-

A), 25 mg/kg i.p., significantly increased the duration of sleep, but also the latency was significantly prolonged. However, the larger proportion of males where sleep was produced was not modified by proadifen (table III).

REFERENCIAS

1. HOLCK, H.G.O., KANAM, M.A., MILLS, M.L., SMITH, E.L., *J. Pharmacol. Exper. Therap.* 194:122, 1937.
2. QUINN, J.P., AXELROD, J., BRODIE, B.B., *Biochem. Pharmacol.* 7:152, 1958.
3. MUÑOZ, C., GUERRERO, S., PAEILE, C., CAMPOS, I., *Tox. Appl. Pharmacol.* 3:455, 1961.
4. MAXWELL, J.M., *Fed. Proc.* 12:349, 1953.
5. AXELROD, J., *Fed. Proc.* 12:299, 1953.
6. WIRTH, W., HOFFMEISTER, F., *Pharmakologische Untersuchungen mit Propanidid. En Die Intravenöse kurznarkose mit dem neuen Phenoxyessigsäurederivat Propanidid (Epontol[®]); K. Horatz, R. Frey y M. Zindler, editores, Springer-Berlin, 1965, p. 17.*
7. DOENICKE, A., *Acta Anaesth. Scandnav, Suppl.* xvii, 21, 1965.