



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO ANSIOLÍTICO DE ANALOGOS 1-N
SUSTITUIDOS DE MELATONINA, EN RATAS CON EL
MODELO DE PLUS-MAZE.**

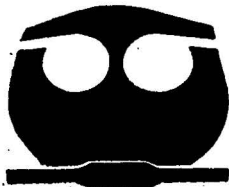
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

MARCELA MIRANDA MORALES



MÉXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente Dra. Ofelia Espejo González.
Vocal M. en C. Ana María Vázquez Alvarez
Secretario Dra. Elia Brosla Naranjo Rodríguez.
1er suplente M. en C. Alejandro Ortiz Osornio.
2do suplente M. en C. Juana Cecilia Juárez Gordiano


Este trabajo se realizó en la sección de Farmacología de el
Departamento de Farmacia, laboratorio 1/E y Bioterio 4º piso,
edificio "A", Facultad de Química, UNAM.

Asesora:



Dra. Ofelia Espejo González.

Supervisor técnico:



M. en C. Alfonso Sebastián
Lira Rocha.

Sustentante:



Marcela Miranda Morales.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con el apoyo de Beca otorgada por la Dirección General de Apoyos al Personal Académico (DGAPA) dentro del proyecto de investigación PAPIIT – DGAPA. UNAM No. IN210900.

A la Dra. Ofelia Espejo González, por su confianza y apoyo.

A una persona que no tuve la oportunidad de conocer en el transcurso de la carrera, pero que afortunadamente lo hice finalizando el año 2001 y pude darme cuenta de la calidad de ser humano que es y agradezco infinitamente su tiempo, ayuda y conocimientos que me brindó al trabajar en su laboratorio. Persona ejemplo de carácter, dedicación y amistad, gracias por todo...

Dra. Elia Brosia Naranjo Rodríguez.

A el M. En C. Alfonso Lira Rocha, por su ayuda.

A el MVZ. Atonatiu E. Gómez Martínez, por su ayuda e instalaciones prestadas.

DEDICATORIAS

-A Francisca Morales Cabrera, por ser la razón de cada una de las cosas que hago. Te agradezco por estar conmigo, cuidarme, darme tu cariño, y enseñarme a valorar la gente que me rodea. Eres la primera persona que pude querer y soy afortunada al encontrarte en mi camino. **Mamá** en toda la extensión de la palabra y la persona más importante de mi vida. Te quiero muchísimo.

A Cruz Miranda Martínez, por inculcar en mí la perseverancia y el carácter para afrontar la vida, sólo me vienen gratos recuerdos tuyos Papá.

A Gervacio Miranda Morales: Cuando es referido el nombramiento de "Ángel de la Guarda", me llegas a la mente tú, porque siempre estuviste en el momento que más te necesite y estoy segura de que sí no fuera por tu apoyo yo jamás habría logrado esto. Eres una de las personas que más admiro por tu valioso espíritu, tu fuerte carácter y la dedicación que pones a todas las cosas que haces. Te quiero mucho querido hermano.

A Guillermina Miranda Morales. Una persona firme y constante para tus propósitos, gracias por toda tu ayuda y espacio que me has dado, te quiero mucho.

A Francisco Mojica López. Una de las personas más valiosas en mi vida, eres mi apoyo en los momentos de flaqueza y comparte de mis alegrías, te agradezco el haberte conocido, tu cariño, ayuda y compañía, te quiero mucho.

A Javy y César (mis hermanitos), por los ratos agradables, apoyo y la inolvidable infancia que pasé junto a ustedes, si hay alguien que los quiere soy yo.

A Nata, por tu cariño, siempre me ha asombrado tu templanza, gracias por todo.

A Lucy, tú siempre fuiste el molde que quise copiar en todos los aspectos, me enorgullezco de haberte tenido a mi lado porque aprendí mucho de fortaleza y percepción de la vida. Gracias por todo lo que me has ayudado.

A Ángel e hijas. Una persona admirable e inteligente, que estoy segura que si necesito de ti ahí estarás.

A Max y Valente, valoro su decisión y esfuerzo, sepan que pese a la distancia los recuerdos ayudan a preservar lo bello de nuestra familia, espero volver a verlos pronto.

A mis nuevas sobrinas: Alín y Sharon, a Denis, Damián y Daniel, Nelly, Jasmín, Toño, Jacqueline, Pepe, Chavela y Hugo, Chano, José Luis y Marco.

Una parte muy importante de mi trabajo es de ustedes porque he recibido mucho de todos, me alegra pertenecer a una familia como la nuestra, y celebren conmigo, porque es un logro de todos.

LOS QUIERO MUUUUUUCHO.

A mis compañeros del laboratorio 1E: Ruth por toda tu ayuda y apoyo moral amiga, Alex, Lorena, Alfredo, Yas, Luzma, Maestra Rosario, Brenda, Luz, Carmen, Eira y Saraid, por el ambiente de trabajo y reuniones amenas con todos, que hacían agradable la estancia en el lab.

A Fanny, fuiste amiga y confidente antes que entrenadora, gracias a ti aprendí mucho y también de basquetbol.

A mis compañeros del equipo de basquetbol de la facultad Química: Lety, Jime, Ene, Alicia, Lucas, Rafa, Alex, Dona, Tona, Alfredo, Evelyne, Rosy, Jorge, José Luis, Pao, Paty, Chantal, Merc, Magda y todos los que me faltaron.

Los momentos más lindos en la Facultad los pase con ustedes porque también fueron mis amigos, son unos chavos super.

A mis amigas de la Facultad:

Vero, Gaby Maggie, Esther y Ale, los momentos y aventuras que vivimos, créanme que son verdaderamente inolvidables, gracias por su amistad, cariño y compañía. Cada una tiene cualidades especiales, las quiero mucho.

...Estar en la Facultad fue lo mejor que pudo pasarme.

ÍNDICE

Capítulo	página
I-Introducción -----	1
II-Generalidades -----	3
IIa- Ansiedad -----	3
IIb- Modelos de ansiedad -----	14
IIc- Glándula pineal -----	12
IIId- Melatonina -----	19
III-Hipótesis -----	28
IV-Objetivos -----	29
VI-Desarrollo experimental -----	30
VII-Resultados y análisis -----	35
VIII-Conclusiones -----	44
IX-Referencias bibliográficas -----	45
Diagrama 1 -----	50
Anexo 1 -----	51
Anexo 2 -----	52

I-INTRODUCCIÓN

La ansiedad es un proceso que está presente en todos los individuos, en cualquier época de su vida y que tiende a ocasionar diversos trastornos, si esta no es controlada con el tratamiento adecuado. Dentro del tratamiento, los fármacos más utilizados son las benzodiazepinas (BZP), que además de poseer efectos: sedante-hipnótico y relajante muscular, presentan efectos adversos severos, como la dependencia. Otro de los compuestos propuestos para el tratamiento de la ansiedad es la melatonina (MEL), que es una hormona sintetizada y secretada por la glándula pineal, la cual presenta los efectos: ansiolítico, inductor de sueño, cambios en el metabolismo, antigonadotrópico y sincronizador de los trastornos de los ritmos circadianos como el "jet lag", el ciclo vigilia-sueño, la depresión y la ansiedad, y quizá su más reciente participación en los procesos neurológicos degenerativos. La similitud entre los efectos inducidos por MEL con aquellos provocados por fármacos GABAérgicos (sedante hipnótico, anticonvulsivos), sugiere un nexo entre la glándula pineal y estos sistemas. A pesar de los efectos que produce la MEL presenta un tiempo de vida media muy corto de aproximadamente 30 minutos. En base a esto, existe la propuesta de sintetizar análogos 1-N sustituidos de ella que tengan menores efectos adversos que las BZP pero que conserven el efecto ansiolítico que será analizado. Por tanto el objetivo

de este trabajo es evaluar el efecto ansiolítico de dichos análogos utilizando 78 Ratas macho Wistar (Harlan), que distribuidas en grupos de 6 se pesarán marcarán, y con la administración intraperitoneal del control positivo (Diazepam), MEL, cuatro análogos de ella, los vehículos específicos para cada sustancia, y un grupo de ratas íntegras, con el modelo Plus-Maze durante 5 minutos, y de esta manera establecer diferencias y/o similitudes entre cada análogo su control y vehículo correspondiente. De los cuatro análogos probados, el compuesto M3C presentó el mejor efecto ansiolítico.

II-GENERALIDADES

IIa-ANSIEDAD

La ansiedad es un miedo vago y general (*Priest, 1993*), cuyas manifestaciones en el aspecto físico son: temblores, tensión, insomnio, transpiración y micción frecuente, se presenta como reacción defensiva instantánea ante el peligro, ejerciendo una función protectora en las diferentes especies y ha salvaguardado a la humanidad durante miles de años. Desde una perspectiva ontogénica, los miedos comunes son una adquisición biológica temprana destinada a preservar a la infancia de posibles daños. Los tres tipos de miedos más sólidamente arraigados en la especie humana son:

- a) El miedo a los animales, reminiscencia del miedo evolutivo a los depredadores.
- b) El miedo a los daños físicos, vestigio atávico del temor a los peligros que se pueden encontrar en la naturaleza.
- c) El miedo a la separación.

La memoria actúa como un amplificador del miedo: los pensamientos recuerdos intensifican los miedos aprendidos.

En el caso de los trastornos de ansiedad, la respuesta de miedo funciona como un dispositivo "defectuoso", que se activa y previene de un peligro inexistente. Precisamente el ser humano actual esta abocado a abordar el fascinante problema

de ¿cómo controlar los aspectos perjudiciales de las respuestas de miedo?, conservando, sin embargo, sus beneficios protectores (*Echeburúa, 1996*). En base a esto hay un interés reciente por clasificar los trastornos de ansiedad sobre nuevas bases conceptuales, referidas en particular al abandono de una supuesta etiología y a la agrupación de los cuadros clínicos en torno a la presencia de síntomas comunes (*Echeburúa, 1996*).

CLASIFICACIÓN DE LA ANSIEDAD

The International Statistical Classification of Diseases tenth revision (ICD-10 OMS, 1992) y Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) American Psychiatric Association (APA, 1994), las dos nosologías psiquiátricas más recientes e influyentes, son básicamente semejantes en el ámbito de los trastornos de ansiedad, pero sus diferencias no son menos importantes y reflejan la presencia de dos cuestiones conceptuales aún no resueltas: a) ¿cuáles son los límites de los trastornos de ansiedad? y, b) ¿cómo clasificar los trastornos que se encuentran dentro de tales límites? (*Echeburúa, 1996*), tal como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los trastornos de ansiedad en el DSM-IV y en el ICD-10 (*Echeburúa, 1996*).

ICD-10	DSM-IV
F40 Trastornos fóbicos	300.21 Trastornos de pánico con agorafobia 300.22 Agorafobia sin historia de trastorno de pánico
F40.0 Agorafobia	300.23 Fobia social
F40.1 Fobia social	300.29 Fobia específica
F40.2 Fobia específica	
F41 Otros trastornos de ansiedad	300.01 Trastorno de pánico sin agorafobia 300.02 Trastorno de ansiedad generalizada
F41.0 Trastornos de pánico	

F41.1 Trastornos de ansiedad generalizada	300.30 Trastorno obsesivo-compulsivo
F41.2 Trastorno mixto de ansiedad y depresión	300.81 Trastornos de estrés postraumático
F42 Trastorno obsesivo compulsivo	300.24 Trastorno adaptativo con estado de ánimo ansioso
F43 Trastornos de estrés intenso y trastornos de adaptación	300.82 Trastorno de personalidad por evitación
F43.0 Reacción de estrés aguda	
F43.1 Trastorno de estrés postraumático	
F60.6 Trastorno de personalidad ansiosa (por evitación)	

BASES BIOLÓGICAS DE LA ANSIEDAD

Las posiciones más actuales de la neurobiología, a la hora de explicar la fisiopatología del fenómeno del pánico y los trastornos de ansiedad, en general, tratan de evitar concepciones excesivamente centradas en una única estructura neuronal o un solo sistema de neurotransmisión, con el ánimo de intentar integrar la enorme cantidad de datos experimentales que se han obtenido hasta el momento. Entre ellos el modelo de Charney (*Navarro, 2000*), se basa en una neuroanatomía funcional que contempla las bases biológicas de la ansiedad y el miedo como un entramado de redes neuronales, con diversas estructuras y sus proyecciones aferentes y eferentes, que serían responsables de este tipo de conductas (*Navarro, 2000*) para comprender las características clínicas de dichos trastornos. A continuación se describen algunos resultados obtenidos a la fecha.

SISTEMAS NEUROTRANSMISORES IMPLICADOS EN LA ANSIEDAD

1. El sistema benzodiazepinas (BZP)-ácido gama-amino-butírico tipo A (GABA_A), fig. 1.

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central (SNC) del mamífero. Se han dividido sus receptores en dos tipos principales. El subtipo de receptor del GABA más relevante, el receptor GABA_A, es un canal de iones cloruro de compuerta de ligando que se abre después de la descarga de GABA a partir de las neuronas presinápticas. Un segundo receptor, el receptor GABA_B, es un miembro de la familia de receptores acoplados con proteína G que actúa tanto en las vías bioquímicas como en la regulación de los canales de iones (*Goodman y Gilman, 1996*).

En animales de experimentación, ha determinado que las situaciones que causan ansiedad modifican la actividad de los ligandos a los sitios de unión de cómo lo hacen las benzodiazepinas (BZP, fármacos prototipo para el tratamiento de la ansiedad), de tal manera que han sido planteadas tres hipótesis para explicar los mecanismos neurobiológicos involucrados en el comportamiento y reacciones fisiológicas como respuesta a un estímulo externo:

- a).- La ansiedad es causada por la secreción de agonistas inversos endógenos en la región del receptor a BZP: un octadecapéptido y DBI (inhibidor unido a diazepam), disminuyendo el tono GABAérgico y de esta manera disminuyendo su función inhibitoria.

b).- Los cambios que ocurren con el receptor y la actividad de los ligandos es reemplazada hacia la posición del agonista inverso. Por lo que pacientes con desórdenes de ansiedad pueden tener también diferencias en la constitución del sistema BZ-GABA_A haciéndolos vulnerables al estrés , o que la ansiedad pueda inducir esos cambios.

c).- El efecto de un agonista endógeno puede ser observado en individuos normales y es disminuido en presencia de desórdenes de ansiedad, desafortunadamente no se ha logrado identificar claramente. (**Clement, 1998**).

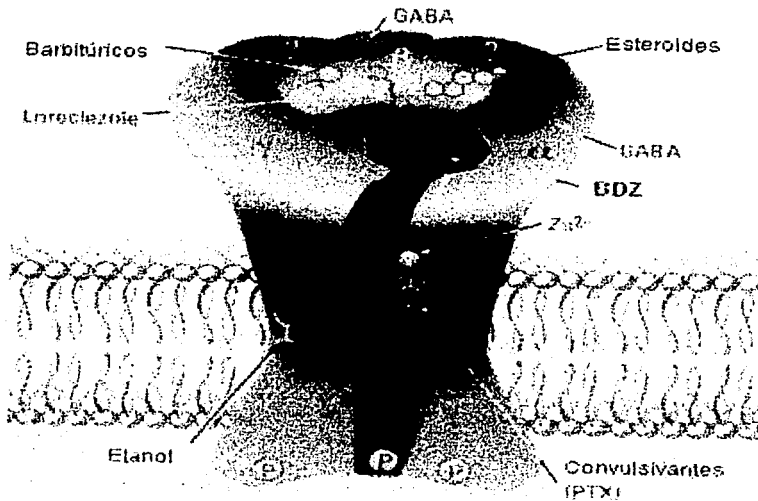


Fig. 1 Receptor a GABA A. Estructura que muestra el sitio de unión de las BDZs y otras sustancias sobre el receptor GABA (www.niaaa.nih.gov/publications/arh21-2/127.pdf).

2.- El sistema serotoninérgico.

La serotonina (5-Hidroxitriptamina), es un neurotransmisor en el SNC, sus acciones son mediadas por una diversidad de receptores de membrana celular.

Estudios clínicos y en animales incrementaron la evidencia que sugiere que la neurotransmisión serotoninérgica puede estar involucrada en la etiología expresión y tratamiento de la ansiedad. La ansiedad es usualmente asociado con incremento endógeno de receptor a serotonina 5-

HT, de esta manera los progresos en Farmacología y Biología Molecular han sugerido la existencia de más de 14 subtipos de receptores 5-HT (*Katzung, 2002*).

El receptor presináptico 5-HT_{1A} se localiza en el área límbica (neocorteza, septum, hipocampo, amígdala), con localización somatodendrítica. Actualmente, los datos experimentales sugieren que la potencia ansiolítica puede estar asociado a receptores presinápticos, la administración de un agonista a este receptor como es el caso de buspirona (otro fármaco ansiolítico no GABAérgico) probado en ratón en varios modelos de ansiedad, provoca disminución en la interacción social y aumento en el mordisqueo (*Clement, 1998*).

Por otro lado, los receptores 5-HT_{1B} (autoreceptor terminal presináptico) se han encontrado principalmente en la sustancia negra, globus pallidus y striatum, y la activación de estos receptores provoca ansiedad, cuando se administran agonistas en ratón con el de modelo Plus-Maze (*Clement, 1998*). Su participación en los procesos de ansiedad no ha sido establecida del todo sin embargo estudios recientes sugieren que éstos son heterorreceptores y modifican la liberación de otros neurotransmisores.

Otro caso es el subtipo 5-HT_{2A} que está principalmente localizado en la corteza, hipocampo, striatum, bulbo olfatorio y cordón espinal. Otros receptores que también se han encontrado son 5-HT_{2C}, 5HT₃ cuya

activación produce ansiedad en animales experimentales y en el humano. Actualmente se ha propuesto la existencia de una relación entre otros subtipos 5-HT (5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ y 5-HT₇), de los cuales el 5-HT₄ es el nuevo candidato a probarse en regulación de la ansiedad (**Clement, 1998**).

3.- El sistema colecistocinina (CCK).

La CCK es el principal neuropéptido localizado en la corteza cerebral y el sistema límbico en mamíferos. El papel que desempeña en la ansiedad como responsable de la acción de inductores químicos de ansiedad y pánico (**Navarro, 2000**) fue observado inicialmente en voluntarios humanos normales. Dos formas moleculares de CCK han sido aisladas del cerebro, el CCK₈ que fue la que se aisló en su mayoría con receptores CCK_A y CCK_B, también se encontró un fragmento pequeño CCK₄ que presentó mayor selectividad por receptores CCK_B que por CCK_A (**Woodruf, 1991; citado por Clement, 1998**).

En experimentos con animales de laboratorio, la administración sistémica e intraventricular de fármacos agonistas de CCK producen ansiogénesis, asimismo la administración de fármacos sintéticos antagonistas de CCK_B producen un efecto ansiolítico y también se ha demostrado en estudios humanos. (**Cement, 1998; Daugé, 1998**).

4.- El sistema noradrenérgico (NAérgico) y dopaminérgico (DAérgico) también han sido relacionados con la ansiedad.

La noradrenalina (NA) es una catecolamina, que media la transmisión de impulsos de los nervios postganglionares simpáticas, sus receptores se clasifican en tres tipos principales denominados β , α_1 Y α_2 (*Katzung, 2002*).

El papel de la NA en la ansiedad es sostenido porque existe una relación entre efectividad clínica de compuestos ansiolíticos y el sistema NAérgico. Por ejemplo agonistas α_2 -adrenoceptor producen ansiólisis en animales sometidos a las pruebas de Plus-Maze y Vogel así como antagonistas α_2 -adrenoceptor como la yohimbina, induce efectos ansiogénicos en humanos y animales (*Charney, 1984; Shimada 1995; citado por Clement, 2000*).

La dopamina (DA) es una catecolamina endógena, sus efectos biológicos son mediados por interacciones con receptores específicos de ella. Desde hace tiempo se conocen subtipos de receptores de dopamina farmacológicamente distintos, denominados D₁ y D₂, éstos comprenden dos tipos de receptores D₁ y tres tipos de receptores D₂ (*Katzung, 2002*).

El sistema DAérgico puede también estar involucrado en desórdenes de ansiedad en particular en aquellos casos en los que la activación DAérgica involucra receptores D₁ y D₂ (*Simón, 1994; citado por Clement, 1998*). Existe evidencia de que, en experimentos con animales (*Bennet, 1989, citado por clement, 1998*) y estudios preclínicos (*Wiley, 1992; citado por*

Clemen, 1998), el receptor N-metil-D-Aspartato (NMDA) que es un subtipo de receptor a glutamato, tiene efectos ansiolíticos (**Katzung, 2002**). La administración repetida de un antagonista de NMDA como CGP 37849 en Vogel y Plus-Maze inducen efectos ansiolíticos. (**Jessa, 1996; citado por Cement, 1998**).

Hay reportes de que también el neuropéptido Y es un cotransmisor en muchas neuronas postganglionares parasimpáticas y neuronas vasculares postganglionares simpáticas no adrenérgicas (**Katzung, 2002**), y está implicado en trastornos de pánico y ansiedad, con niveles plasmáticos anormalmente altos de esta sustancia, que quizá reflejan una respuesta compensatoria a la hiperactividad del sistema noradrenérgico (**Wahlestedt y Heilig, 1995; Boulenter y colaboradores, 1996; citado por Navarro, 2000**).

ANATOMIA DE LA ANSIEDAD

Una de las áreas involucradas en los desórdenes de ansiedad es el dorsal periaqueductal gris en el cerebro medio. El sistema límbico (amígdala, hipocampo) es otro sitio clave para la ansiedad, ahora involucrada en la integración del comportamiento y mecanismos fisiológicos en reacciones defensivas (Fig. 2). Microinyecciones de BZP o antagonistas 5-HT en la amígdala produjeron efectos ansiolíticos en pruebas de conflicto, mientras que

la administración de agonistas 5-HT_{1A} producen un efecto ansiogénico (Clement, 1998).



Figura 2. Representación esquemática del sistema límbico humano (www.fleni.org.ar/atlas/cerebro.jpg).

BASES GENÉTICAS DE LA ANSIEDAD

Algunos estudios en ratones han sugerido que tres regiones autosomales están involucradas en el control del comportamiento ansiogénico; una de las regiones cromosomales que contienen el locus *b* en el cromosoma 4, otra en la región cromosomal que contiene el locus *p* en el cromosoma 7 y la otra en la región cromosomal que contiene el locus *se* en el cromosoma 9 (Clement, 1998).

BASES FARMACOLÓGICAS DE LA ANSIEDAD

Desde el decenio de 1950 se han desarrollado fármacos con eficacia demostrada contra una amplia gama de trastornos psiquiátricos graves, lo que ha originado el surgimiento de la subespecialidad de psicopatología. Los conocimientos de los efectos de estos agentes han estimulado notablemente la investigación en la psiquiatría biológica, tendiente a definir los cambios fisiopatológicos (*Goodman y Gilman, 1996*).

Los fármacos psicotrópicos pueden clasificarse en cuatro categorías principales, antipsicóticos o neurolépticos, los antimaniacos, los antidepresores y los últimos que son nuestro objeto de estudio los ansiolíticos y sedantes.

El tratamiento actual para los trastornos de ansiedad consiste en el grupo de BZP, que facilitan la hiperpolarización neuronal por medio del complejo macromolecular del canal de cloro receptor del GABA. A diferencia de muchos psicotrópicos, las acciones clínicas de las BZP se conocen mejor como reflejo de sus velocidades tempranas de absorción y su cinética de distribución. Las BZP potentes son eficaces en trastornos de pánico, lo mismo que en el trastorno generalizado de ansiedad. Aún genera controversia su tasa de riesgos y beneficios a largo plazo. Los agonistas parciales de los receptores 5-HT_{1A}, como la buspirona, tienen también efectos ansiolíticos y psicotrópicos de otros tipos que resultan útiles, y con menor probabilidad de inducir sedación o dependencia (*Goodman y Gilman, 1996*), tablas 2 y 3.

Tabla 2. Muestra algunas sustancias que han sido reportados con propiedades de modificación de la ansiedad en humanos (*Griebel, 1995*).

a= solo activo siguiendo tratamiento crónico.

+/-, +, ++, +++ = orden creciente de eficacia.

ANSIOLÍTICOS	EFICACIA	SITIO/MECANISMO DE ACCIÓN
Benzodiacepinas	+++	Receptores a benzodiacepinas
Barbitúricos	+++	Sitio de barbitúricos
Etolol	+++/-	¿?
Buspirona	+++a	Receptores 5-HT _{1a}
Clonidina	+/-	Alfa2-adrenoreceptores
Imipramina	++a	Inhibidor del recapturador de minas
Nicotina	+	Receptores nicotínicos
Propranolol	++	Beta-adrenoreceptores
MAOIs	++a	Inhibición de la MAO

Tabla 3. Muestra algunas sustancias que han sido reportados con propiedades de modificación de la ansiedad en humanos (*Griebel, 1995*).

a= solo activo siguiendo tratamiento crónico.

+/-, +, ++, +++ = orden creciente de eficacia.

ANGIOGÉNICOS	EFICACIA	SITIO/MECANISMO DE ACCIÓN
FG 7142	++	Receptor a benzodiacepinas
Pentilentetrazol	++	Sitio picrotoxina
Cafeína	++	Receptores adenosina
Yohimbina	+	Alfa2-adrenoreceptores

IIB-MODELOS ANIMALES DE ANSIEDAD

Para lograr un mejor entendimiento de la neurobiología de la ansiedad, los neurocientíficos han desarrollado modelos animales para reproducir algunos de los síntomas observados en humanos (*Clement, 1998*), en el diagrama 1 (pag. 50), se presentan los diferentes modelos utilizados para medir ansiedad en animales de laboratorio.

IIc-GLÁNDULA PINEAL

Los organismos vivos tienen la capacidad de orientarse en el espacio y en el tiempo. Ellos distinguen entre un tiempo cíclico o lineal, la forma corresponde al tiempo desde su nacimiento hasta su muerte, los organismos se han adaptado a variaciones cíclicas, así como fluctuaciones estacionales de luz y temperatura en su medio ambiente, resultado de la rotación de la tierra en su propio eje (*Malacara, 1991*). Esto nos lleva a la conclusión de que existe un mecanismo endógeno por el cual se llevan a cabo estas funciones. Tal es el caso que explica la existencia de la glándula pineal (GP).

Las primeras referencias a la GP o *epíffis cerebri* se encuentran en la cultura India (2000 años a. C.), en donde se le consideraba como el órgano de la clarividencia. Más tarde, los griegos, debido a la posición anatómica de la glándula, creyeron que su función era regular el flujo de los espíritus animales a través de los ventrículos cerebrales. Los espíritus animales eran considerados como el sustrato para el desarrollo del conocimiento.

En el siglo XVIII, Descartes la consideró el "asiento del alma", e influyó para que durante mucho tiempo se considerara a la GP en el plano filosófico-científico; éste concepto prevaleció hasta el siglo XIX, en que se obtuvieron algunos datos de su papel como glándula endocrina.

A pesar de la intensa investigación que se desarrolló en la primera mitad del siglo XIX, los escasos resultados obtenidos llevaron a la comunidad científica a considerar que la GP era un órgano vestigial y atrófico. Fue en 1959 cuando se

inició la etapa actual de nuestro conocimiento. En este año Lerner, basándose en las experiencias efectuadas en 1936 por Mc Cord y Allen (*citado por Malacara, 1991*), aisló e identificó en la GP de los bovinos el factor que produce la contracción de los melanóforos, y, por lo tanto, el aclaramiento de la piel de los batracios. Este factor es un metoxindol al que denominó melatonina producido por la GP (*Malacara, 1991*).

A lo largo de la evolución pocas estructuras muestran cambios histológicos y morfológicos tan marcados como los "órganos pineales". Estos son formaciones saculares del diencéfalo que, en los vertebrados inferiores y en los fósiles anfibios, comprenden, además de la epífisis propiamente dicha, a la parafisis, al órgano parapineal, al ojo parietal, etc. En general, estas estructuras están colocadas superficialmente en el cráneo y tienen función de fotorrecepción, información que mandan a través de fibras nerviosas al cerebro; por ello también se les conoce como "ojo pineal", "tercer ojo", "ojo parietal", etc. A medida que se asciende en la escala filogenética, los elementos sensoriales desaparecen y van siendo sustituidos por células parenquimatosas con capacidad secretora, de modo que en los vertebrados superiores incluyendo al hombre, sólo persiste la función de secreción interna (*Malacara, 1991*), figura 3.

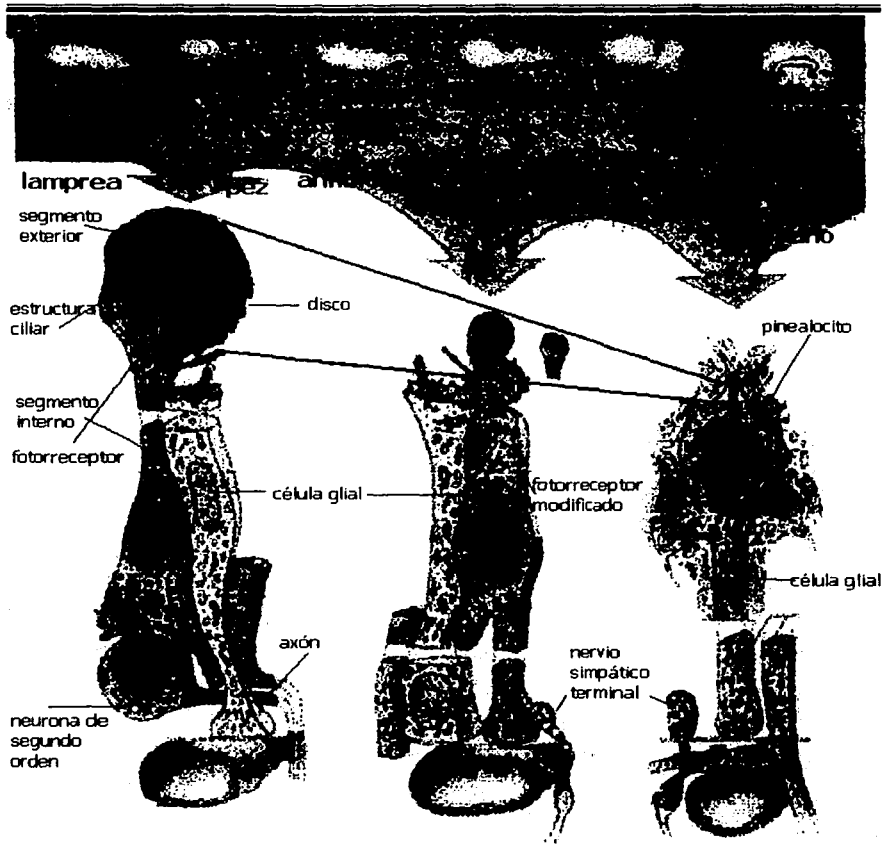


Fig. 3 Evolución del órgano pineal de los vertebrados (Falcón, 1999).

A semejanza de algunas neuronas de la eminencia media, la GP de los mamíferos es considerada como un "transductor neuroendocrino", ya que el

pinealocito (célula funcional de la GP) recibe información de tipo nervioso, la cual, una vez decodificada, es "traducida" a una señal de tipo químico. De manera esquemática, la entrada está constituida por la liberación de noradrenalina (NA), a nivel de las terminaciones postsinápticas del ganglio simpático cervical superior (GSCS). Estas fibras constituyen la etapa final de una cadena multisináptica originada en la retina, y conducen la información de las condiciones ambientales de luz, fig. 4. El proceso de trasducción está representado por la biosíntesis de melatonina (MEL) y quizá de otros metoxindoles (*Malacara, 1991*), (Fig. 5).

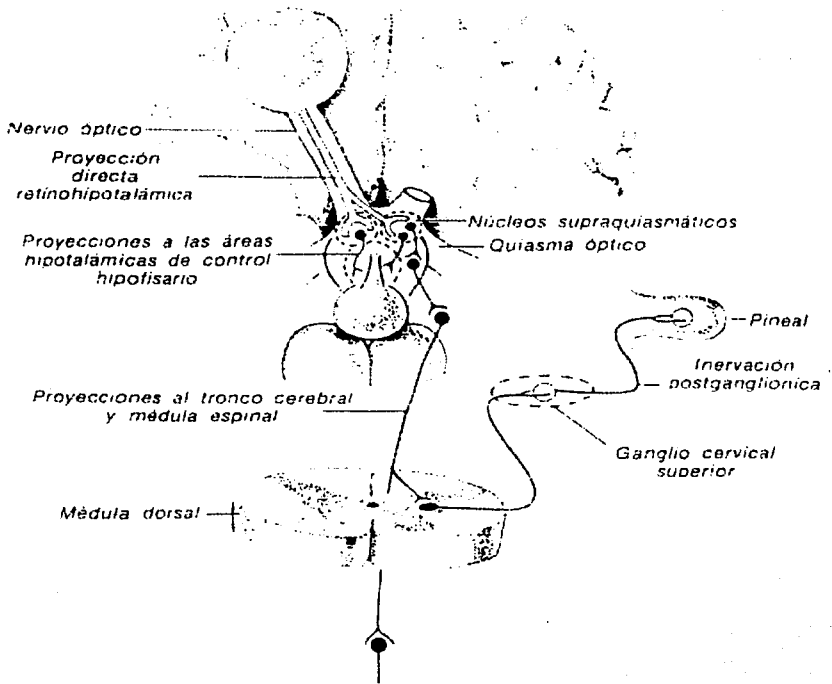


Fig. 4 Diagrama esquemático de las estructuras neurales que regulan la función pineal (Robert, 1985).

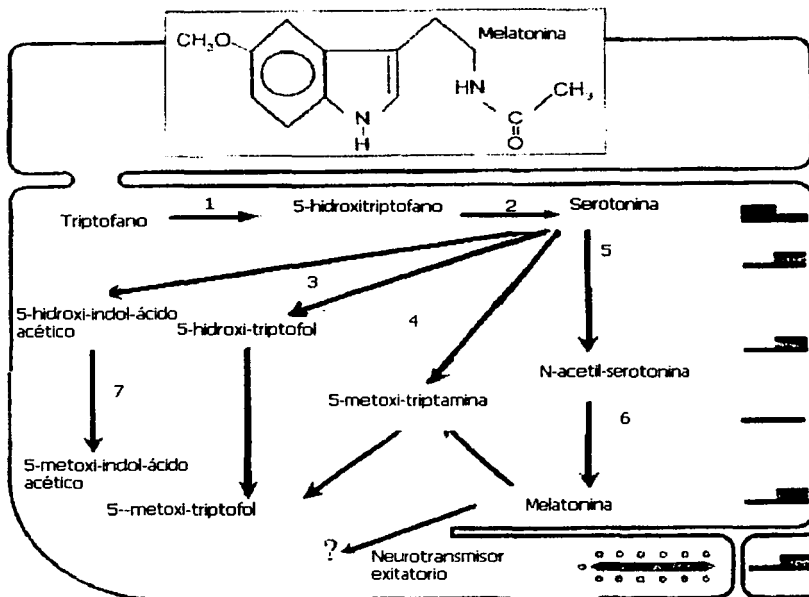


Fig. 5 En este esquema se muestran los diferentes metoxindoles a partir de su precursor triptofano. 2=Descarboxilasa de amonocidos aromáticos, 5=Arilalquilamina N-acetiltransferasa, 7=Deacetilasa, 6=Hidroxiindolo-metil transferasa, 3=Monoaminoxidasa, 1=Triptofano hidroxilasa. La estructura química de la melatonina se muestra en la parte superior, y los esquemas de la parte derecha:

Concentración alta durante la fotofase=



Concentración alta durante la escotofase=
(Falcón, 1999)



IIId-MELATONINA

Debido a la influencia de la luz ambiental, la velocidad de síntesis de la MEL, así como los niveles de las enzimas y sustratos que comprende esta vía metabólica, muestran un ritmo circadiano (fig. 6). A medida que avanza la edad, el contenido

de MEL en el suero disminuye y el aumento nocturno también se reduce. La máxima actividad biosintética se observa a la media noche y los niveles más bajos en el transcurso del día (*Labhart, 1990*). La actividad rítmica parece generarse de manera autónoma en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, siendo este ritmo espontáneo del núcleo el que se bloquea o se facilita por las condiciones ambientales de luz.

El mecanismo de fototransducción en vertebrados inicia con la iluminación que activa la molécula rodopsina, y la subunidad alfa de transducción (T alfa) cambia de GDP a GTP. Esta induce la disociación de la subunidad beta-gama de la T alfa y T alfa activada une y activa la GMPC fosfodiesterasa, ésta induce una disminución en los niveles de GMPC. GMPC abre el canal catiónico de la membrana externa durante la oscuridad. La iluminación incrementa la posibilidad de que el canal permanezca cerrado (fig. 6).

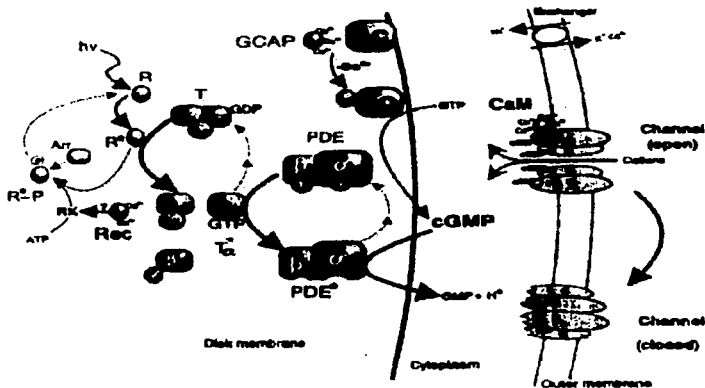


Fig. 6 Se muestra el mecanismo de foto transducción de vertebrados. R=molécula rodopsin, R*= rodopsin activada, T alfa= subunidad alfa de transducción, GMPC=Guanil monofosfato cíclico, PDE=fosfodiesterasa, GTP=Guanil trifosfato, RK=rodopsin cinasas, CaM=calmodulina, GC=Guanilciclasa.

La MEL, como se ilustra en la figura 5, es la N-acetil-5-metoxitriptamina y, por lo tanto, un derivado de la serotonina (5-H-T). La serotonina (proviene del aminoácido triptofano) es primero acetilada en la cadena lateral a N-acetilserotonina y después metoxilada por la hidroxil-indol-orto-metil-transferasa (HIOMT), enzima que transfiere el grupo metilo de la s-adenosilmetionina, al grupo hidroxilo de la posición número 5 del anillo indólico de la N-acetilserotonina.

La MEL circulante tiene una vida media del orden de minutos, ya que el hígado rápidamente la hidroxila a 6-hidroximelatonina, que posteriormente es excretada libre o conjugada con ácido glucurónico o con sulfato (*Malacara, 1991*).

La certeza de que la GP humana produce MEL durante toda la vida se ha obtenido al medir la actividad enzimática de las glándulas obtenidas por autopsia, en biopsias de tumores metastásicos; y recientemente por cuantificación en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y en el plasma, mediante RIA (radio inmuno ensayo) su concentración oscila con el fotoperiodo; su nivel es de 3 a 6 veces más alto durante la noche que durante el día (*Malacara, 1991*).

Aún, cuando se ha descrito que la pineal produce una gran variedad de compuestos activos, serotonina, metoxindoles, norepinefrina, polipéptidos con actividad antigonadotrópica, etc., la mayor parte de la información se encuentra centrada sobre los efectos de la MEL. En contraste con la serotonina, la MEL sí atraviesa la barrera hamatoencefálica, y hay pruebas de que el sistema nervioso central (SNC) es un órgano blanco de esta hormona (*Malacara, 1991*).

El efecto de la luz sobre el tamaño testicular también se transmite por medio de la GP. La MEL llega hasta los órganos efectores por vía sanguínea y no a través de LCF. Al parecer los receptores a MEL se localizan en la región preóptica del SNC e inhiben la síntesis y liberación de gonadotropinas a través de las vías SAérgicas y del hipotálamo (*Labhart, 1990*). Los efectos sobre el hipofisossuprarrenal no se conocen bien, aunque es probable que influyan sobre el ritmo circadiano de secreción suprarrenal. Se desconoce el efecto de esta hormona sobre la hormona tiroidea y la hormona de crecimiento, así como sobre los núcleos supraópticos y paraventricular (*Labhart, 1990*).

Además de la luz y de la oscuridad, está controlada también por un "reloj" circadiano endógeno que funciona tanto en caso de ceguera como de oscuridad. La luz constante suprime la síntesis de MEL, pero la oscuridad constante no determina una secreción continua de la hormona, sino que su nivel fluctúa siguiendo el ritmo de 24 horas. Así pues, la GP convierte los estímulos nerviosos en estímulos hormonales. Además de la luz, existen algunas hormonas, como los estrógenos, que suprimen la formación de MEL, mientras que otras, como la adrenalina liberada por el estrés, la incrementan (*Labhart, 1990*)

La GP comienza a acumular calcio después de la pubertad, aunque ello no influye en su actividad, ya que la actividad de la enzima HOIMT se mantiene intacta desde el inicio de la juventud hasta edades avanzadas. El significado fisiológico de la GP en el ser humano no se conoce bien, aunque las investigaciones de los últimos años han reportado nueva luz sobre los fenómenos fisiopatológicos de la pubertad, como la pubertad precoz que suele darse cuando existen tumores originados en el parénquima de la glándula pineal, y dan lugar a un retraso de la pubertad, y se ha demostrado un aumento de la concentración de HIOIMT en ellos. Este es el motivo de que la GP pueda impedir el desarrollo prematuro de la pubertad y la función sexual (*Labhart, 1990*).

Se han reportado resultados de un antagonismo funcional entre la glándula pineal y la pituitaria, sugiriendo que la GP participa en el síndrome adaptación general al estrés. Otros estudios muestran que la GP modula la esteroidogénesis y

corticosteroidogénesis en condiciones normales y de estrés. La involución del timo puede ser usado como marcador de exposición a estrés. Recientemente se ha reportado que la MEL inhibe los efectos de estrés vía mecanismo opiáceo.

Una obvia consecuencia periférica de la exposición al estrés prolongado es la formación de la úlcera gástrica, y en un estudio se encontró que la MEL inhibe la formación de estas lesiones en ratas pinealoctomizada en la fase de oscuridad del ciclo luz-oscuridad, lo que sugirió la investigación de la posibilidad de modulación de la respuesta al estrés por la GP (*Khan y colaboradores, 1990*).

En experimentos tanto "in vivo" como "in vitro" la MEL parece ser efectiva como antioxidante y agente oncostático, puede proveer de protección contra procesos de enfermedades degenerativas, juega un papel en la maduración sexual, reproducción, función inmune y enfermedades psiquiátricas (*Brusls, 2000; Reiter, 2000*). La MEL ha sido involucrada en el estudio para el tratamiento de varios trastornos del sueño, incluyendo insomnio y síndrome de fase de sueño retardado, la MEL ha demostrado mejorar el inicio del sueño, duración y calidad cuando se administra en voluntarios sanos, sugiriendo un efecto farmacológico hipnótico. Así mismo se ha sugerido como resincronizador de algunos trastornos del ritmo circadiano como es el "jet lag" (cambio del huso horario) (*Katzung, 2002*).

Los resultados obtenidos al estudiar la GP como una glándula oncostática en modelos animales de tumorigénesis especialmente en tejido mamario, con la

administración de MEL redujo la incidencia y crecimiento de tumores murinos químicamente inducidos, mientras que la pinealectomía o situaciones que implican una reducción de la producción de MEL generalmente estimulan la carcinogénesis. Las acciones directas de la MEL en tumores mamarios han sido sugeridas por su capacidad de inhibir a dosis fisiológicas (1 nM), la proliferación de células cancerosas humanas MCF-7 (*Sanchez, 2000*).

El entendimiento de los sitios de unión y el mecanismo de acción de la MEL ha progresado considerablemente en los últimos años por medio de la clonación de proteína G acoplada , y se sabe que los receptores de MEL transmembranales (MT₁ y MT₂) son expresados principalmente en el SNC, mientras que alfa RZR/ROR es expresado en sistema nervioso central y periférico. (*Carlberg, 2000*).

Como se observa la MEL induce una serie de respuestas en el comportamiento de los individuos, sin embargo la vida media de MEL es muy corta y es necesario encontrar alternativas con el mismo efecto, por lo que nuestro propósito es investigar este efecto en análogos de MEL, y concluir diferencias con los controles positivos utilizados, MEL y diazepam.

III-HIPÓTESIS

Actualmente, es conocido el hecho de que la melatonina ejerce efectos ansiolíticos en animales de laboratorio incluyendo la rata utilizando el modelo de Plus-Maze, si un análogo de melatonina aumenta el número de entradas y tiempo de permanencia, en el brazo abierto de el mismo modelo con una diferencia significativa respecto a su vehículo a una dosis específica, entonces se puede decir que a esa dosis dicho análogo ejerce un efecto ansiolítico en rata.

IV-OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto ansiolítico que poseen los análogos 1-N sustituidos de melatonina, en rata con administración intraperitoneal mediante el modelo de ansiedad Plus-Maze.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el efecto ansiolítico del diazepam (control positivo) y melatonina en el Plus-Maze.
- Determinar el efecto ansiolítico de los análogos M2B, M2C, M3B, M3C.
- Establecer diferencias y/o semejanzas estadísticas entre las sustancias a probar y su vehículo específico.
- Establecer diferencias estadísticas entre los análogos y la melatonina.

V-DESARROLLO EXPERIMENTAL

MATERIAL Y MÉTODO

MATERIAL DE VIDRIO

Jeringas, pipetas graduadas, frascos viales.

MATERIAL BIOLÓGICO

En el desarrollo de los experimentos siguientes se utilizaron 72 ratas macho HsdBrlHan:WIST de peso 175-199g (Harlan Méx.), las cuales se distribuyeron en 12 grupos de $n=6$.

EQUIPO

Modelo plus-maze de madera que consiste en dos brazos abiertos 50X10 cm, y dos brazos cerrados 50X10X40 cm, sin techo; dispuesto en cruz con los brazos semejantes frente a frente, elevado a una altura de 50 cm, las mediciones de observación conductual fueron llevadas a cabo por un solo observador ubicado cerca del equipo, de tal forma que permitiera la visualización de los cuatro brazos (*Pellow, 1985; Ramos y colaboradores, 1996*), hecho en la Facultad de Química tal como muestra la figura 6. En este modelo el efecto ansiolítico se manifiesta cuando el animal aumenta su tiempo de permanencia en el brazo abierto.

Balanza granataria (ER-VA)

Balanza analítica (METTLER TOLEDO)

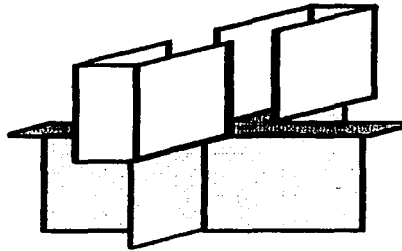


Fig. 7 Esquema de el modelo Plus-Maze, utilizado en la parte experimental.

RECOLECCIÓN DE DATOS EN ANEXO 1 (pag. 52).

SUSTANCIAS

Melatonina (SIGMA)

Diazepam (Roche)

Análogos de melatonina, cuyas estructuras se ilustran en el anexo 2 (pag. 51):

M2B, M2C, M3B y M3C, sintetizados en el laboratorio 121 edificio E de la Facultad de Química.

SOLUCIONES

Vehículo 1 (Melatonina y análogos) : Propilenglicol (MERCK) 40%, etanol (MERCK) 20%, agua destilada 40%, vehículo 2 (diazepam): propilenglicol.

DOSIS UTILIZADAS

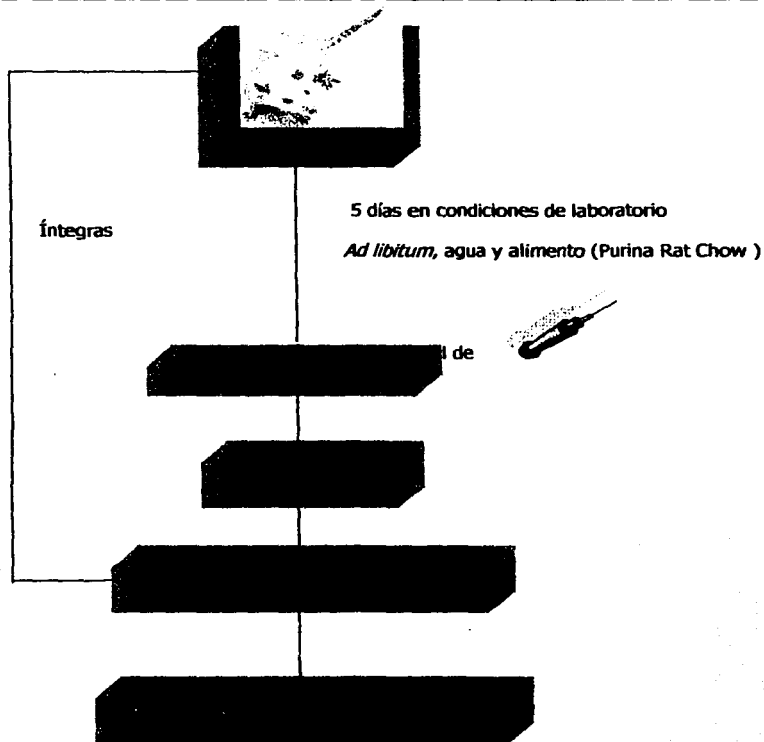
Grupos	Dosis (mg/Kg)	
	2 (D)	
Melatonina	1 (M1)	2 (M2)
M2B	1 (M2B1)	2 (M2B2)
M2C	1 (M2C1)	
M3B	1 (M3B1)	2 (M3B2)
M3C	1 (M3C1)	2 (M3C2)

Vehículo (grupos)	Volumen (mL)
1 (V1)	Peso de la rata (g)/100

Íntegras (Int)	-----
----------------	-------

PROCEDIMIENTO

Se realizó un estudio piloto con los análogos de melatonina para conocer la dosis ansiolítica, y posterior a eso se siguió el procedimiento experimental que se muestra en el siguiente diagrama:

**Observaciones:**

- ⊗ Número de entradas a los brazos abiertos.
- ⊗ Número de entradas a los brazos cerrados.
- ⊗ Tiempo que permanece en cada brazo abierto.
- ⊗ Tiempo que permanece en cada brazo cerrado.
- ⊗ Defecación, micción, actividad locomotora, piloerección y caídas.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante la prueba estadística de t de Student (*Pellow, 1985; Castilla, 1991; Saunders, 1993*), con una probabilidad $p < 0.005$, con los promedios se realizaron las gráficas presentadas.

El formato de la recopilación de datos, se encuentra en el anexo 2.

VII-RESULTADOS Y ANALISIS

De acuerdo a la metodología descrita, los resultados obtenidos del comportamiento de las ratas durante 5 minutos en el Plus-Maze, se describen en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros en el modelo Plus-Maze.

Ent BA=	Número de entradas en el brazo abierto.
Tiem BA=	Tiempo de permanencia en el brazo abierto.
Heces=	Frecuencia de animales que defecaron en el plus-maze.
Hiperventilación=	Observación de agitación respiratoria acelerada del animal.
Caidas=	Frecuencia de caídas a el suelo del animal durante su permanencia en el plus-maze.
DS=	Desviación estándar.
+	25% de los individuos que presentaron la respuesta.
++	50% de los individuos que presentaron la respuesta.
+++	75% de los individuos que presentaron la respuesta.
++++	100% de los individuos que presentaron la respuesta.

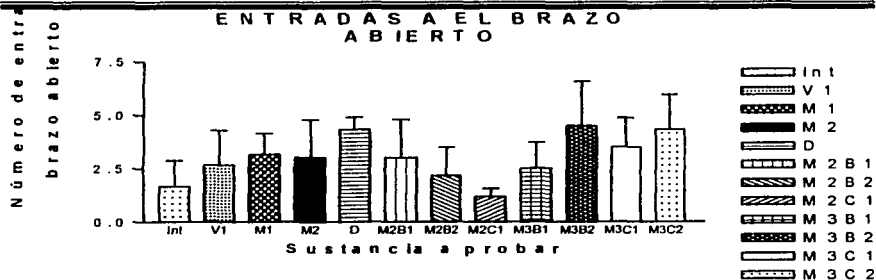
Sustancia	Ent BA X y %	Tiem BA y % (min)	Heces	Micción	Hiperven- tilación	Mordisqueo	Piloerección	Caidas	DS Ent A	DS Tiempo (min)
Int	37.11	33.20	++	++	+++	++	++++	-	1.21	1.73
V1	39.09	31.40	+++	+	+++	+	++	-	1.63	1.56
M1	45.29	54.20	++	+	-	-	-	+	0.98	1.33
M2	58.03	62.00	+	-	-	-	-	+	1.79	1.22
D	80.00	79.80	+	-	-	-	-	+	2.81	0.3
M2B(1)	41.18	39.20	++	-	-	-	-	+	1.79	1.52
M2B(2)	36.17	24.20	+++	-	-	-	-	-	1.33	0.84
M2C(1)	30.55	08.80	-	++	-	-	-	-	0.41	0.55
M3B(1)	48.36	44.60	+	-	-	+	-	-	1.22	1.15
M3B(2)	62.76	52.80	+	-	-	-	-	+	2.07	1.54
M3C(1)	51.24	39.20	+	-	-	-	-	-	1.38	0.79
M3C(2)	63.23	49.60	+	-	-	-	-	-	1.63	1.32

Las gráficas que a continuación se presentan muestran el promedio de las respuestas de cada grupo que se midieron y que son necesarias para evaluar el efecto ansiolítico de las sustancias probadas (Tabla 5 y 6; Gráficas 1 y 2).

Tabla 5. Datos promedio del número de entradas en el brazo abierto en el Plus-Maze, y la desviación estándar de cada grupo.

Int= íntegro; V1= vehículo 1; M= Melatonina; M2B-M3C= Análogos de melatonina; (1), (2)= 1 y 2 mg/ Kg.

Grupo	\bar{X}	D S
Int	1.67	1.63
V1	2.67	0.50
M1	3.75	0.98
M2	3.00	1.79
D	4.00	1.00
M2B(1)	3.00	1.79
M2B(2)	2.17	1.33
M2C(1)	1.17	0.41
M3B(1)	2.50	1.22
M3B(2)	4.50	2.07
M3C(1)	3.50	1.38
M3C(2)	4.30	1.63



Gráfica 1. Se describen los resultados obtenidos con el promedio de entradas en el brazo abierto de cada grupo y las barras de desviación estándar, $p < 0.005$.

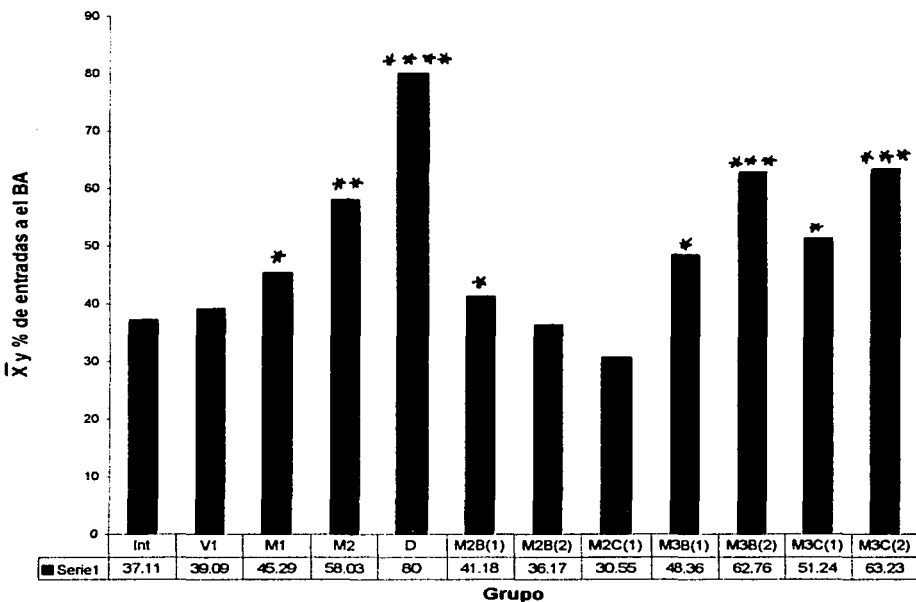
Tabla 6. Datos promedio de el tiempo de permanencia en el brazo abierto del Plus-Maze, y la desviación estándar de cada grupo, $p < 0.005$.

Grupo	X	D S
Int	1.66	1.73
V1	1.57	1.56
M1	2.35	1.33
M2	3.10	1.22
D	3.99	1.12
M2B(1)	1.96	1.52
M2B(2)	1.21	0.84
M2C(1)	0.44	0.55
M3B(1)	2.23	1.15
M3B(2)	2.64	1.54
M3C(1)	1.96	0.79
M3C(2)	2.48	1.32

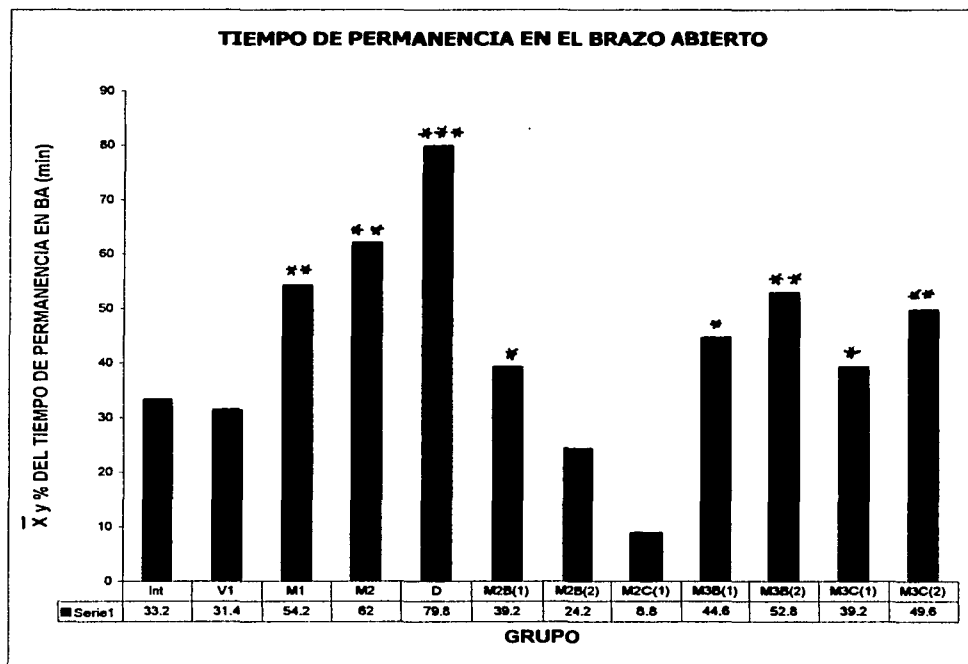


Gráfica 2. Resultados obtenidos con el promedio del tiempo de permanencia en el brazo abierto de cada grupo y las barras de desviación estándar, $p < 0.005$.

ENTRADAS AL BRAZO ABIERTO



Gráfica 3. En ella se describen los resultados de entradas en el brazo abierto (BA) como promedio y porcentaje, (n=6), *p<0.005, utilizando como control positivo Diazepam. Se muestra un mayor efecto ansiolítico de los compuestos M3B(2) y M3C(2).



Gráfica 4. Resultados de tiempo de permanencia en el brazo abierto como promedio y porcentaje, (n=6) *p<0.005, utilizando como control positivo Diazepam. Se muestra un mayor efecto ansiolítico de los compuestos M3B(2) y M3C(2).

ANÁLISIS DE RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos en el número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo abierto, en general, la tendencia es la misma en ambos casos, pero marcada para el caso del tiempo. Los datos obtenidos fueron analizados mediante la prueba t de Student, ($p < 0.005$) (*Pellow, 1985; Saunders, 1993; Castilla, 1991*), comparando entre el grupo de íntegras respecto a los demás. Se determinó que para el control positivo diazepam a la dosis reportada como ansiolítica (2 mg/Kg) (*Ramos, 1997*), se aprecia una diferencia en el % de número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo abierto respecto al grupo de íntegras (efecto ansiolítico), también, la melatonina 1 y 2 (mg/Kg) (*Naranjo, 2000*), se observa este comportamiento aumentado en forma directamente proporcional a las dosis administradas.

Con los análogos de melatonina probados: M2B a una dosis de 1 mg/Kg se observa un aumento de las dos respuestas número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo abierto, y disminuyen a la dosis de 2 mg/Kg.

El análogo M2C a dosis de 1mg/Kg presentó una respuesta menor respecto al grupo de íntegras, cabe mencionar que se realizó un experimento piloto con 2 ratas y se encontró que a una dosis de 0.5 mg/Kg, el número de entradas y tiempo de permanencia aumentaba, con una diferencia estadísticamente no significativa.

Se realizó una comparación con la prueba t de Student, entre la melatonina 2 mg/Kg respecto a los análogos M3B y M3C a 2 mg/Kg, encontrando, una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.005$) en el número de entradas al brazo abierto.

Los análogos M3B y M3C produjeron un incremento de estas respuestas a la dosis de 1 mg/Kg, estos mismos análogos al aumentar la dosis a 2 mg/Kg, aumentan también las respuestas, siendo mayor para el caso del análogo M3C a una dosis de 2 mg/Kg, siendo esta la sustancia que presentó el mejor efecto ansiolítico.

Las observaciones micción, piloerección e hiperventilación son las reacciones que presentaron en común el grupo de íntegras y el vehículo utilizado. El número de caídas fue mayor con diazepam y el análogo M3B a la dosis de 2 mg/Kg, es necesario resaltar que fueron los mismos grupos que presentaron un efecto ansiolítico con mayor diferencia respecto al grupo de íntegras. En cuanto a las otras observaciones no se encuentra un patrón definido.

Respecto a la estructura química de los análogos de melatonina, p -metoxibenzoilo y p -metoxifenilo, son los que tienen mayor actividad, al parecer el grupo electrodonador tiene un efecto en la capacidad de producir efecto ansiolítico, como es el caso de M3B y M3C a la dosis de 2 mg/Kg. Cuando se administra el análogo que presenta el grupo sustituyente nitro ($-\text{NO}_2$), tal como en p -nitrobenzoilo y p -nitrofenilo, la actividad disminuye, inclusive en el caso de M2C,

presenta un efecto menor comparado con el vehículo utilizado. Probablemente el efecto electrónico de los sustituyentes, específicamente en la posición 4 del anillo bencénico, tenga una relación directa con la actividad biológica, y correlaciona con los resultados obtenidos en el trabajo realizado por Lira y colaboradores (*Lira, 2002*), en el que realizan una investigación con análogos 1-N-sustituidos de melatonina relacionándolos con la unión al receptor en membrana de cerebro de pollo, y se determinó que el p-metoxifenilo presento una mayor afinidad, y p-nitrofenilo la más baja, siendo éstos en los que de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo presentan efecto ansiolítico y ansiogénico respectivamente.

VIII-CONCLUSIONES

- Se determinó el efecto ansiolítico del control positivo (diazepam) con administración intraperitoneal, en ratas de la cepa Wistar, utilizando el modelo de Plus- Maze.
- Melatonina presentó el mejor efecto ansiolítico a la dosis de 1 y 2 mg/Kg.
- Se determinó el efecto ansiolítico de los análogos de melatonina M2B, M3B y M3C a una dosis de 2mg/Kg .
- El análogo con mayor efecto ansiolítico fue M3C a una dosis 2mg/Kg, respecto a los demás.
- El grupo N-sustituyente en el anillo indólico tiene una relación directa con la actividad biológica medida (efecto ansiolítico).

IX-BIBLIOGRAFÍA

Bennett D. A., Bernard P. S., Amreck C. L., Wilson D. E., Liebman J. M., Hutchinson A. J. (1989). Behavioral, pharmacological profile of CGS 19755, a competitive antagonist at N-methyl-D-Aspartate receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 250: 454-460p.

Bruls E., Crasson M., Van Reeth O., Jegros J. J. (2000). Melatonin II physiological and therapeutic effects. *Rev. Med. Liege.* 55:9 862-870p.

Carlberg C. (2000). Gene regulation by melatonin. *Ann N Y Acad Sci.* 917: 387-396p.

Cassone M. Vincent, Warren S. Wade, Brooks S. David, Lu Jun. (1993). Melatonin, the pineal gland, and circadian rhythms. *Journal of Biological Rhythms.* 8: S73-S81p.

Castilla S. L., Cravioto J. (1991). Prueba de ji cuadrada de Bartlett para demostrar la homogeneidad de varianzas. En: *Estadística simplificada para la investigación en ciencias de la salud.* 1ª ed. México, Trillas. 279-284p.

Charney D. M., Deutch A. (1996). A functional neuroanatomy of anxiety and fear implications for the pathophysiology and treatment of anxiety disorders. *Critical review in Neurobiology.* 10: 419-446p.

Charney D. S., Heninger G. R., Breirer A. (1984). Noradrenergic function in panic anxiety; effects of yohimbine in healthy subjects and patients with agoraphobia and panic disorder. *Arch. Gen Psychiatry.* 41: 751-776p.

Clement Yan, Georges Chapouthier, (1998). Biological bases of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 22:5 623-633.

Cos S., Sanchez Barcelo E. J. (2000). Melatonin and mammary pathological growth. *Front Neuroendocrinol.* 21:2 133-170p.

Cos S., Sanchez Barcelo E. J. (2000). Melatonin, experimental basis for a possible application in breast cancer prevention and treatment. *Histol Histopathol.* 15:2 637-647p.

Daugé Valérie, Léna Isabelle. (1998). CCK in anxiety and cognitive proceses. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 22:6 815-825p.

- Echeburúa Enrique (1996). Clasificación de los trastornos de ansiedad. En: Avances en el tratamiento psicológico de los trastornos de ansiedad. Madrid, Pirámide. 21-32 y 19-21p.
- Falcón Jack, (1999). Cellular circadian clocks in the pineal. *Progress in Neurobiology*. 58: 121-162.
- Gleeson S., Ahlers S. T., Mansbach R. S., Foust J. M., Barrett J. E. (1989). Behavioral studies with anxiolytic drugs. VI. Effects on punished responding of drugs interacting with serotonin receptor subtypes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 250:3 809-817p.
- Goldman D. Bruce, Darrow M. Janet. (1983). The pineal gland and mammalian photoperiodism. *Neuroendocrinology*. 37: 386-396p.
- Golomberg A. Diego, Pévet Paul, Cardinali P. Daniel. (1996). Melatonin effects on behavior: Possible mediation by the central GABAergic system. 20:3 403-412p.
- Goodman y Gilman (1996). Fármacos y tratamiento para trastornos psiquiátricos. Psicosis y ansiedad. En: Las bases farmacológicas de la terapéutica Vol I. 9ª ed. México, Mc. Graw Hill Interamericana, 423-447p.
- Greenspan Francis S. (1988). Neuroendocrinología. En: Endocrinología básica y clínica. 1ª ed. México, El manual moderno. 37-38p.
- Griebel Guy, (1995). 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmac. Ther.* 65: 319-395
- Guardiola Béatrice. (1997). Toxicology of melatonin. *Journal of biological rhythms*. 12:6 697-706p.
- Hastings M. H., Vance G., Maywood E. (1989). Phylogeny and function of the pineal. *Experientia*. 45:10 903-1008p.
- Jessa M., Nazar M., Bidinski A., Plaznik A. (1996). The effects of repeated administration of diazepam, MK 801 and CGP 37849 on rat behavior in two models of anxiety. *Eur. Psychopharmacol.* 6: 55-61p.

Jorge E. Ricardo, Leston E. Jorge, Arndt Stephan, Robert G. Robinson, (1999). Cluster headaches association with anxiety disorders and memory deficits. *Neurology*. 53: 543-547p.

Kahn R, Daya S., Potgieter B. (1990). Evidence for a modulation of the stress response by the pineal gland. *Experientia* 46: 860-862p.

Katzung G. Bertram (2002). Botánicos ("hierbas medicinales") y suplementos nutrimentales. En: *Farmacología básica y clínica*. 8ª ed. México, El manual moderno. 1234p.

Labhart Alexis (1990). La glándula pineal y órganos circunventriculares. En: *Endocrinología clínica teórica y práctica*. 1ª ed. México, Salvat. 67-69p.

Lira Rocha Alfonso, Espejo González Ofelia, Naranjo Roriguez elia. (2002). Receptor-binding studies of 1-N-sustituted melatonin analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Aceptado para publicación.

Lister G. Richard. (1990). Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmac. Ther.* 46: 321-340p.

Malacara J. M. (1991). La glándula pineal. En: *Fundamentos de Endocrinología*. 4ª ed. México, Editorial Salvat. 113-121p.

Mansbach R. S., Harrod C., Hoffmann S. M., Nader M. A., Lei Z., Witkin J. M., Barrett J. E. (1988). Behavioral studies with anxiolytic drugs. V. Behavioral and in vivo neurochemical analyses in pigeons of drugs that increase punished responding. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 246:1 114-119p.

Naranjo Rodríguez Elia B., Ortiz Osornio Alejandro, Hernández Avitia Eva, Mendoza Victor, Escobar Alfonso. (2000). Anxiolytic-like actions of melatonin, 5-methoxytryptophol, 5-hidroxytryphol and Benzodiazepines on a conflict procedure. *Prog. Neuro-Psycopharmacol and Biol*. 24: 117-129p.

Navarro José Francisco (2000). Bases biológicas de los trastornos de ansiedad, bases biológicas de los trastornos del pánico. En: *Bases biológicas de las psicopatologías*. 1ª ed, Barcelona. 111-123p.

Nordio M., Vaughan m. K., Zisapel N., Migliaccio S., Van jaarsveld A.; Reiter R. J.(1989) A Novel Melatonin antagonist, N-(2,4-dinitrophenyl)-5-methoxytryptamine

neutralizes some effects of melatonin in the female syrian hamster. The Society for experimental Biology and Medicine. 1977: 321-325.

Pellow Sharon, Chopin Philippe, File E. Sandra, Briley Mike. (1985). Validation of open : closed arm entries en an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*. 14: 149-167p.

Priest G. Robert (1993). ¿Qué es la ansiedad? En: *Ansiedad y Depresión*. 1ª ed. México, Plural. 13-22p.

Ramos André, Berton Olivier, Marméde Pierre, Chaoulouff Francis. (1997). A múltiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. *Behavioural Research*. 85: 57-69p.

Reiter R. J., Tan D. X., Manchester Q. W., Karbownik M., Calvo Jr. (2000). Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. *Biol Signals Recept*. 9:3-4 160-171p.

Robert H (1985). *Neuroendocrinología. Tratado de Endocrinología*. 6ª ed. Interamericana. 673-677p.

Sanchez Barcelo (2000). Melatonin a mammary pathological growth. *Front Neuroendocrinol*. 21:2 133-170p.

Saunders B. D. Estimación y comparación de medias. En: *Bioestadística Médica*. 1a ed. El manual moderno, 1993. 115-141p.

Shimada T., Matsumoto K., Osanani M., Matsuda H., Terasawua K., Watanabe H. The modified ligh/dark transition test in mice: Evaluation of classic and putative anxiolytic and anxiogenic drugs. *Gen. Pharmacol*. 26: 205-210p.

Simon P., Panissaud C., Costentin J. (1994). The stimulant effect of modafinil on wakefulness is not associated with an increase in anxiety in mice. *Psychopharmacology*. 114: 597-600p.

Stankov B., Capsoni S., Lucini V., Fauteck J., Gatti S., Gridelli B., Biella G., Cozzi B., Fraschini F. (1993). Autoradiographic localization of putative melatonin receptors in the brains of two old world primates: *Cercopithecus aethiops and papio ursinus*. *Neuroscience*. 52:2 459-468p.

Varga Zoltán, Panyi György, Péter Mózes Jr., Pieri Carlo, Csécei György, Damjanovich Sándor, Rezső Jr. (2001). Multiple binding sites for melatonin on Kv1.3. *Biophysical Journal*. 80: 1280-1297p.

Wiley J. L., Balster R. L. (1992). Preclinical evaluation of N-methyl-D-Aspartate antagonists for antianxiety effects: a review. In multiple sigma and PCP receptor ligands: Mecanismos for neuromodulation and neuroprotection?. ed. NPP Books, Ann Arbor. 801-815p.

Witkin J. M., Mansbach R. S., Barrett J. E., Bolger G. T., Skolnick P., Weissman B. (1987). Behavioral studies with anxiolytic drugs. IV. Serotonergic involvement in the effects of buspirone on punished behavior of pigeons. 243:3 970-977p.

Woodruff G. N., Hugues J. (1991). Cholecystokinin antagonists. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 31: 469-501p.

MODELOS ANIMALES DE ANSIEDAD

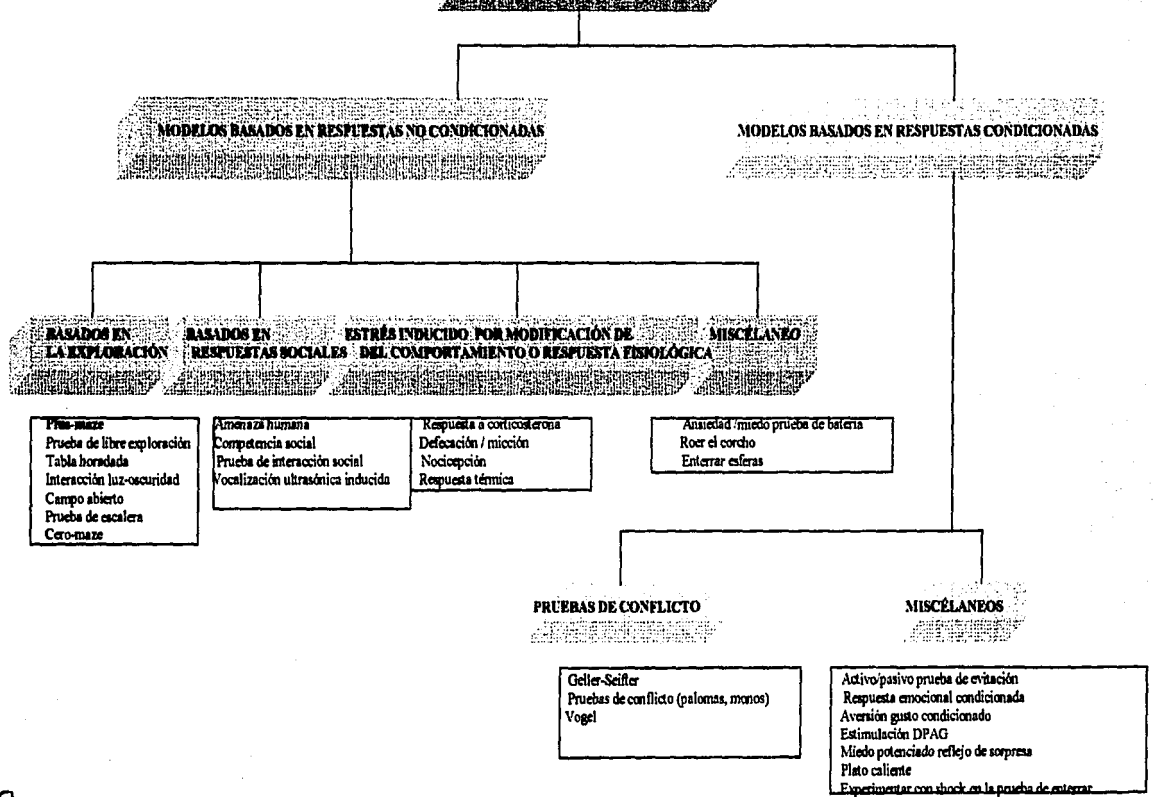
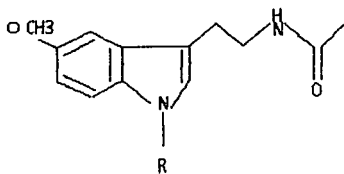


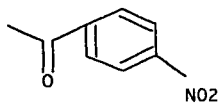
Diagrama 1. En el se muestran diferentes tipos de modelos para el estudio de la ansiedad (Griebel, 1995).

50

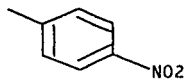
MELATONINA



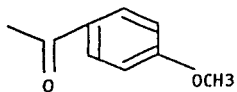
M2B R1



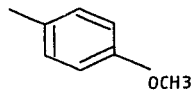
M2C R2



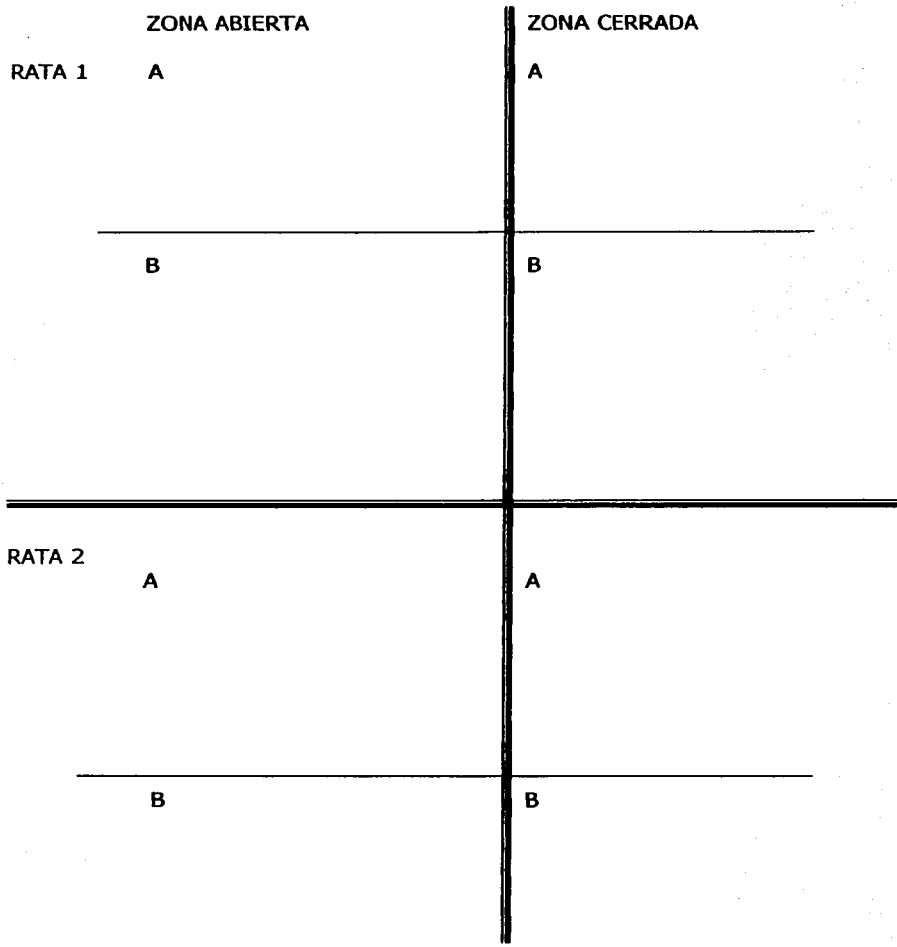
M3B R3



M3C R4



Anexo 1. En este se presentan las estructuras químicas de la melatonina y sus análogos.



ANEXO 2. Esquema de recopilación de datos para cada rata.