

125



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Efecto Ansiolítico de la Melatonina a diferentes dosis, administrada IcVtr en Ratas.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
Químico Farmacéutico Biólogo**

**P R E S E N T A**

**Ma. de los Ángeles Ponciano Alegría**



**EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA**

**MÉXICO, D.F.**

**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.



**Agradezco a la Dirección General de Asunto del Personal Académico por el apoyo otorgado para la realización de esta tesis, dentro del proyecto DGAPA-PAPIIT intitulado "Caracterización de las acciones Ansiolíticas y posible Mecanismo de Acción de la Melatonina y Sustancias Análogas. 1-N-Sustituidas"**

**Con No. de Clave IN210900.**

A la UNAM por permitirme vivir en estas hermosas instalaciones y disfrutar del conocimiento.

Le agradezco al Dr. Atonatiu Gómez Martínez por haberme apoyado en la realización de este uno de mis grandes sueños, permitiéndome entrar al Bioterio facilitándome hogar para mis ratitas, pero sobre todas las cosas por esa bella y hermosa amistad. Gracias por mostrarnos que en la vida siempre hay alegría y buen humor.

Dra. Mi Agradecimiento infinito por incursionar en este proyecto conmigo, se que fue mucho el tiempo, horas de enseñanza, transmisión de conocimiento, etc sin embargo Ud. Sabe bien que No solo ha sido mi guía profesional, también la amiga que me escucha, me da un su sabio consejo y tiene Fe en mi. ¡Mil Gracias!!!

"Si por un instante Dios se olvidara de que soy una marioneta de trapo y me regalara un trozo de vida, aprovecharía ese tiempo lo más que pudiera".

Posiblemente no diría todo lo que pienso, pero en definitiva pensaría todo lo que digo.

Daría valor a las cosas, no por lo que valen, sino por lo que significan.

Dormiría poco, soñaría más, entiendo que por cada minuto que cerramos los ojos, perdemos sesenta segundos de luz. Andaría cuando los demás se detienen, despertaría cuando los demás duermen.

Si Dios me obsequiara un trozo de vida, vestiría sencillo, me tiraría de bruces al sol, dejando descubierto, no solamente mi cuerpo, sino mi alma.

A los hombres les probaría cuán equivocados están al pensar que dejan de enamorarse cuando envejecen, sin saber que envejecen cuando dejan de enamorarse!

A un niño le daría alas, pero le dejaría que él solo aprendiese a volar.

A los viejos les enseñaría que la muerte no llega con la vejez, sino con el olvido.

Tantas cosas he aprendido de ustedes, los hombres... He aprendido que todo el mundo quiere vivir en la cima de la montaña, sin saber que la verdadera felicidad está en la forma de subir la escarpada.

He aprendido que cuando un recién nacido aprieta con su pequeño puño, por primera vez, el dedo de su padre, lo tiene atrapado por siempre.

He aprendido que un hombre sólo tiene derecho a mirar a otro hacia abajo, cuando ha de ayudarlo a levantarse.

Son tantas cosas las que he podido aprender de ustedes, pero realmente de mucho no habrán de servir, porque cuando me guarden dentro de esa maleta, infelizmente me estaré muriendo.

Siempre di lo que sientes y haz lo que piensas.

Si supiera que hoy fuera la última vez que te voy a ver dormir, te abrazaría fuertemente y rezaría al Señor para poder ser el guardián de tu alma.

Si supiera que estos son los últimos minutos que te veo diría "te quiero" y no asumiría, tontamente, que ya lo sabes.

Siempre hay un mañana y la vida nos da otra oportunidad para hacer las cosas bien, pero por si me equivoco y hoy es todo lo que nos queda, me gustaría decirte cuanto te quiero, que nunca te olvidaré.

El mañana no le está asegurado a nadie, joven o viejo. Hoy puede ser la última vez que veas a los que amas. Por eso no esperes más, hazlo hoy, ya que si el mañana nunca llega, seguramente lamentarás el día que no tomaste tiempo para una sonrisa, un abrazo, un beso y que estuviste muy ocupado para concederles un último deseo.

Mantén a los que amas cerca de ti, diles al oído lo mucho que los necesitas, quíérelos y trátalos bien, toma tiempo para decirles "lo siento", "perdóname", "por favor", "gracias" y todas las palabras de amor que conoces.

Nadie te recordará por tus pensamientos secretos. Pide al Señor la fuerza y sabiduría para expresarlos.

*Gabriel García Márquez*

### **A Dios**

Por guiarme en la vida para seguir el camino adecuado, abrirme las puertas a la felicidad y al conocimiento, pero sobre todas las cosas por haberme dado la capacidad para saber dirigirme por el mejor camino, y encontrar a las personas más bellas.

### **A mi Esposo**

Quien es el aderezo a mi vida, el hombre admirable y el amor de mi vida. Gracias por tu comprensión y apoyo. Espero que este sea uno de los pequeños grandes logros de nuestra vida.

Manuel por demostrarme que al luchar por los sueños y anhelos sin cansancio puedes lograr hasta lo que pareciera imposible, además de mostrarme a una bella familia.

Erick gracias por que contigo he disfrutado mis logros deportivos más que con nadie, y eres el que lejos de los gritos siempre me cuida; solo te pido que no renuncies al saber y que encuentres el mejor de los caminos.

### **A mis Padres**

Por darme todo su apoyo y más de lo que a su alcance estaba, sin saber que me dieron la oportunidad de abrir una gran puerta a la vida que a diario sigue un curso aún sin trancas que no pueda saltar.

### **A mis hermanos**

A Quienes les deseo de todo corazón que su vida sea la mejor y que se forjen el mejor futuro para cada uno de ellos, y sobre todo por que sin sus gritos, ruidos y televisión me hubiera dormido para más de 3 exámenes.

Beto mil gracias por que tu fuiste parte importante en mi formación, por que se que muchas ocasiones llegué a la escuela por ti y tu trabajo.

### **A mis Tíos**

Por que son parte fundamental de mi formación y siempre me han apoyado incondicionalmente.

### A mis primos

Gracias por divertirnos y disfrutar de los mejores juegos juntos.

### Amigos

No podré mencionar a todos pero... lo intetaré:

Mi mamá ( siempre serás mi mejor amiga aún cuando algunas ocasiones no lo pareciera), Mi papichi (porque solo un cuate como tú esta siempre listo para ayudarme), Lisette (primer amiga e incondicional), Dra. Elia, Jose (boni), Ricardo Lona (mi padre postizo), Manuel Alfaro (por el gusto de volvernos a encontrar y desafiar al mundo), Fernando (mi amigo incondicional y especial), Jose Luis, Sergio, Fanny, y todo el equipo de Basquetbol de la H.H.H. Facultad de Química, Hugo (Osito) gracias por tu amistad, Liz, Chayo, Ale, Mario, Carlos, Wendy, Javier, Volis, Yola , Gracias por su amistad.

### Delfinas

Xochitl, Paty, Chio, Gris, Chela, Pao, Carmen, Marce, Mary; por ser mis amigas y compañeras en mi delirio y mi gran vicio que es el Basquetbol. Y recuerden !!(que somos amigas y si se pueded!!!).

### Mi nueva parte de Familia Quezada González.

Que me abrió las puertas de su corazón y su cariño. Y me han demostrado tener una gran fortaleza

### Amigos GSK

Mi agradecimiento y Admiración a todos, por contribuir al termino de esta meta llena de su conocimiento transmitido, y su ayuda en el momento en el que la requiero: Areli, Adi, Rox, Ernes, Ale, Claus, Yose, Ricardo Felipe, Jesus, Hector, Angel (tocayo), Ing. Jauregui, Hirmita Yañez.

Por cierto 1,2,3 por todos mis cuates.... Y los que no lo son también por que gracias a una o varias piedras que me colocaron en el camino, he podido aprender de esos tropiezos para alcanzar mis metas y objetivos.

**LISTA DE ABREVIATURAS**

BUS	Buspirona
BZP	Benzodiazepinas
CDRC	Curva Dosis Respuesta Cuantal
CDRG	Curva Dosis Respuesta Gradual
CDP	Clordiazepóxido
CRH	Hormona liberadora de la Corticotropina
DA	Dopamina
GABA	Ácido Gamma-amino-butírico
GH	Hormona de Crecimiento
GH-RIH	Factor inhibidor de la liberación de GH
GHRH	Hormona liberadora de la hormona de crecimiento
G.P	Glándula Pineal
GRH	Hormona liberadora de Gonadotropinas
GTP	Guanintrifosfato
HIOMT	Hidroxindol-O-metiltransferasa
HPA	Eje Hipotálamo-Pituitario-Adrenal
IM	Intramuscular
IcVtr	Intracerebroventricular
IP	Intraperitoneal
MEL	Melatonina
n	Tamaño de la muestra
NA	Noradrenalina



<b>NAT</b>	<b>N-acetiltransferasa</b>
<b>NPY</b>	<b>Neuro péptido Y</b>
<b>NSQ</b>	<b>Núcleo Supra Quiasmático</b>
<b>PCC</b>	<b>Proteincinasa</b>
<b>PEG</b>	<b>Polietilenglicol</b>
<b>SNA</b>	<b>Sistema Nervioso Autónomo</b>
<b>SNC</b>	<b>Sistema Nervioso Central</b>
<b>SSI</b>	<b>Solución Salina Isotónica</b>
<b>TRH</b>	<b>Hormona liberadora de Tirotopina</b>
<b>U</b>	<b>Unidades</b>
<b>VIP</b>	<b>Péptido intestinal vaso activo</b>



## INDICE

CONTENIDO	PAG.
<b>1.0 INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2.0 GENERALIDADES</b> .....	<b>2</b>
2.1 ANSIEDAD .....	2..
2.1.1 <i>Etiopatogenia y Teorías de la Ansiedad</i> .....	2
2.2 TRATAMIENTO DE LA ANSIEDAD .....	5.
2.3 MELATONINA .....	8..
2.3.1 <i>Biosíntesis, secreción y metabolismo</i> .....	9
2.3.2 <i>Efectos de la Melatonina</i> .....	15
2.4 DESCARGA NORADRENÉRGICA .....	17
2.5 EJE HIPOTALAMICO-HIPOFISIARIO .....	18
2.5.1 <i>Fisiología del Eje Hipotalámico-Hipofisario</i> .....	19
2.5.2 <i>Las Hormonas Hipotalámicas, Neurohormonas</i> .....	20
2.6 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS FÁRMACOS .....	20
2.6.1 <i>Fármacos de Acción específica</i> .....	21
2.6.2 <i>Mecanismo y lugares de Acción de la Melatonina</i> .....	22
2.6.3 <i>Receptores de la MEL</i> .....	23
2.7 MODELOS DE ANSIEDAD .....	25
<b>3.0 OBJETIVOS</b> .....	<b>28</b>
3.1 OBJETIVO GENERAL .....	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
<b>4.0 HIPÓTESIS</b> .....	<b>29</b>
<b>5.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>30</b>
<b>6.0 MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	<b>32</b>
<b>7.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	<b>42</b>
<b>8.0 CONCLUSIONES</b> .....	<b>48</b>
<b>9.0 BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>49</b>
<b>10.0 ANEXOS</b> .....	<b>55</b>
ANEXO 1: HISTORIA DEL ESTUDIO DE LA ANSIEDAD .....	55
ANEXO 2: TEORÍAS DE LA GÉNESIS DE LA ANSIEDAD .....	57
ANEXO 3: MODELOS PARA EVALUACIÓN DE LA ANSIEDAD .....	58
ANEXO 4: TABLA DE EQUIVALENCIAS CONCENTRACIÓN/ DOSIS .....	61



## 1.0 INTRODUCCIÓN

En el humano, el equilibrio psicológico es un aspecto fundamental para el desarrollo de sus actividades. Por lo tanto, las alteraciones de este equilibrio constituyen un importante punto de estudio, a fin de controlar y evitar que estas alteraciones trastornen la evolución del hombre en general. Entre estas alteraciones psicológicas se encuentra la ansiedad, la cual constituye un mecanismo útil de adaptación fisiológica ante problemas de la vida cotidiana. El tratamiento de la ansiedad ha mejorado substancialmente durante los últimos decenios, con la terapia conductual y farmacológica, actualmente, existen una gran variedad de sustancias que atenúan los signos y síntomas característicos de la ansiedad, entre los que se encuentran las benzodiazepinas (BZP); las BZP poseen diferentes efectos ansiolíticos, sedante-hipnóticos y anticonvulsivos, desafortunadamente también, poseen importantes efectos adversos lo que ha proporcionado la búsqueda de sustancias ansiolíticas que carezcan de los efectos indeseables de las BZP y otros fármacos; este es el caso de la MEL que es un indol sintetizado por la glándula pineal (G.P.), que produce efectos similares a las BZP como anticonvulsivos y ansiolíticos, e incluso se ha sugerido una acción por medio de receptores GABA. Los receptores GABA, se encuentran distribuidos principalmente en cerebro y, se ha visto que en el hipotálamo que es una región rodeada por los ventrículos cerebrales, presenta una gran cantidad de estos receptores; por otro lado se ha logrado observar un efecto ansiolítico con la administración intracerebroventricular (IcVtr) de la MEL, por lo que este trabajo tiene como objetivo determinar si el efecto ansiolítico por administración IcVtr de MEL varía al administrar diferentes dosis, utilizando para su evaluación el modelo de Plus-Maze elevado.



## 2.0 GENERALIDADES

### 2.1 ANSIEDAD

La ansiedad es un mecanismo de defensa presente ante diferentes circunstancias como el estrés, factores de origen físico, patológicos y emocionales. Este mecanismo adaptativo de urgencia poco placentero a situaciones adversas, pone en peligro la homeostasis o equilibrio corporal y psíquico del individuo. Es acompañado de molestia corporal subjetiva y cambios sistémicos definidos que comprenden palpitaciones, suspiros o hiperventilación, dolor torácico, sequedad de boca, náuseas, vómito, distensión abdominal, diarrea, oliguria, tensión muscular, usual en cabeza o cuello, mientras que los síntomas psicológicos abarcan la aprensión, irritabilidad, disminución de la memoria, distractibilidad e insomnio (4, 13, 22).

La ansiedad puede volverse un estado patológico, cuando deja de ser un mecanismo de defensa y no hay una razón específica, tornándose en un estado continuo o bien de lapsos recurrentes, siendo necesario su tratamiento (4, 13, 21, 22).

La ansiedad ha sido estudiada desde el siglo XVII hasta la actualidad (ver anexo I) y es una patología que afecta a jóvenes adultos y adolescentes (4, 13, 14, 21, 22).

#### 2.1.1 Etiopatogenia y Teorías de la Ansiedad

Es difícil precisar si la ansiedad es normal ó patológica, al igual que el predecir como y cuando se emitirán las señales que la inducen. Existen casos evidentes que disipan el problema mediante modelos de ansiedad que integran distintos componentes (genética, experiencia pasada, estímulos internos y externos, situación del SNC, estrategias de afrontamiento, adaptación, etc.), y en todos se incluyen los diferentes



factores que participan en la génesis de la ansiedad, en ocasiones enfatizado algún aspecto parcial biológico, conjuntivo, social, psicológico y genético (Tabla 1). (4, 13, 14, 22)

Factores	Fundamento
<b>Culturales</b>	Los valores recibidos, las instituciones educativas y religiosas, el marco legal y frecuencia de culpa y de la conducta buscadora de metas mutuamente exclusivas (conflicto)
<b>Estímulos reales amenazantes</b>	Es una respuesta conductual (huida, inhibición, enfrentamiento, etc.), la cual es una respuesta emocional representada por el miedo a situaciones ambientales estresantes.
<b>Estímulo aprendido</b>	Los adultos tienen problemas en la valoración del mundo por haber cursado una infancia problemática con sus padres, por desacuerdo en el tipo de educación, rígidos o autoritarios, que crean una visión inadecuada de la realidad, y el modo de afrontarla.
<b>Enfermedad</b>	Algunas enfermedades como trastornos tiroideos, feocromocitoma, etc. Generan ansiedad por su relación con su mecanismo neurofisiológico y neuroquímico que regulan la efectividad. (Epilepsia del lóbulo temporal, pulsaciones instintivas etc.)
<b>Enfermedades crónicas o de inicio infantil</b>	Originan que las personas adquieran una pobre imagen de sí mismos. (Diabetes, cardiopatías, parálisis, etc.)
<b>Hipocondría</b>	Valora inadecuadamente las señales de su propio cuerpo.

Tabla No. 1: Factores que participan en la génesis de la ansiedad.

La ansiedad es una patología multifactorial. Existen diferentes teorías acerca de su génesis (Anexo II) y es descrita en forma diferente por distintos individuos. El individuo ansioso puede o no reconocer que sus síntomas físicos son debidos a causas emocionales. Si no lo reconoce, decide en forma característica que está físicamente enfermo y fundamenta en los síntomas la base de su temor y preocupación. Es una patología que limita el alcance de las actividades cotidianas del individuo y disminuye su productividad en el trabajo. Puede alterar la concentración, la memoria, el raciocinio



abstracto, la habilidad para calcular y la eficacia psicomotora. Las subpruebas no verbales de la escala de inteligencia adulta de Wechsler (WAIS), son muy sensitivas para el registro de la ansiedad, y un sujeto ansioso calificará menos a estas que en las subpruebas verbales (4, 14).

Entre la gran cantidad de alteraciones funcionales producidas por la ansiedad, se encuentran manifestaciones somáticas comunes como:

- Perspiración excesiva
- Tensión músculo esquelética: cefalea tensional, constricción de la parte posterior del cuello y del pecho, voz temblorosa y dolor de espalda.
- Respiraciones suspirantes
- Síndrome de hiperventilación: disnea, vértigo y parestesias.
- Trastornos funcionales gastrointestinales: dolor abdominal, anorexia, náusea, mal sabor en la boca, distensión, diarrea, constipación y sensación de vacío en el estómago.
- Disfunción genitourinaria: frecuencia urinaria, disuria, impotencia, dolor pélvico en las mujeres y frigidez.
- Irritabilidad cardiovascular: hipertensión sistólica pasajera, contracciones prematuras, taquicardia y desfallecimiento.
- Es frecuente que hable en exceso, duerma mal y generalmente el interés y la función sexual están alterados.

Aunque la consecuencia de estos signos y síntomas no es bien definida, se ha pensado en la descarga noradrenérgica como una causa de las mismas. Esta descarga se lleva a cabo como una unidad dando como resultado efectos de valor considerable en situaciones de emergencia, preparando así al individuo "para la huida o la pelea" (4, 13, 21,

22, 29).



## 2.2 TRATAMIENTO DE LA ANSIEDAD

A lo largo de la historia, las respuestas psicológicas y de la conducta han sido una parte importante de la experiencia humana y se han preparado numerosos dispositivos y planteamientos ingeniosos para aliviar los diversos síntomas de la ansiedad. Estos problemas pueden abordarse mejor mediante psicoterapia o cuando la situación lo garantiza, mediante el empleo de fármacos como los antidepresores tricíclicos o los antipsicóticos. Sin embargo, con frecuencia la ansiedad es secundaria a estados patológicos (infarto agudo de miocardio, angina de pecho, úlceras gastrointestinales, etc) los cuales por si mismos requieren terapéutica específica. Otra clase de estados de ansiedad secundaria (ansiedad de momento) resulta de circunstancias que es posible que solo necesiten enfrentarse una o algunas veces, incluyendo la anticipación de procedimientos médicos o dentales que asustan, así como la enfermedad de familiares u otras tragedias. Aún cuando la ansiedad de momento tiende a desaparecer en forma espontánea, el uso a corto plazo de sedantes hipnóticos puede ser adecuado para el tratamiento de este estado de ansiedad y de ciertos estados que se relacionan con una enfermedad. De igual modo, el empleo moderado de un sedante hipnótico como medicación anterior a una operación o a algún procedimiento médico desagradable es racional y adecuado (4, 13, 29).

El tratamiento de los trastornos por ansiedad ha mejorado substancialmente durante los últimos decenios, con la terapia conductual y la administración de fármacos, formando los fundamentos del tratamiento eficaz (4, 29).

Aunque el fenobarbital, el meprobamato y ciertos medicamentos sedantes del sistema autónomo (hidroxicina, difenhidramina) continúan empleándose, los



medicamentos más comúnmente usados para el tratamiento de la ansiedad son las BZP, la selección de las BZP se basa en varios principios farmacológicos formulados:

- ✓ Índice terapéutico relativamente alto.
- ✓ Riesgo bajo de interacciones farmacológicas basadas en una inducción enzimática
- ✓ Baja velocidad de eliminación, lo cual puede favorecer la persistencia de los efectos útiles en el SNC.
- ✓ Riesgo bajo de dependencia física, con síntomas mínimos de supresión.

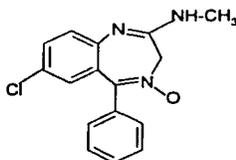
Las BZP (Tabla No.2) son una familia de fármacos que producen sedación y alivian los estados de ansiedad. En los roedores como la rata y el ratón, ejercen una acción tranquilizante, inhibidora de la actividad motora y del castigo. En el hombre son capaces de reducir la aprehensión, la tensión y son potentes relajantes musculares. Las desventajas de las BZP incluyen su tendencia a producir dependencia psicológica, la formación de metabolitos activos y su mayor costo. Al igual que muchos sedantes hipnóticos, las BZP ejercen depresión aditiva del sistema nervioso central cuando se administran con otros medicamentos, incluyendo al etanol, por lo cual, el paciente debe ser advertido para evitar que se altere su rendimiento, en cualquier tarea que requiera agilidad mental y coordinación motora (13, 17, 21, 22, 29).

<b>ANSIOLITICOS</b>	<b>SEDANTES HIPNÓTICOS</b>
● CLORDIACEPÓXIDO	● FLURACEPAM
● DIACEPAM	● TEMACEPAM
● LORACEPAM	● TRIAZOLAM
● PRACEPAM	
● ALPROAZOLAM	
● BUSPIRONA	
● TRIAZOLAM	

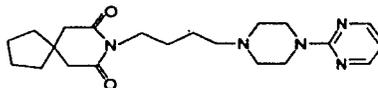
Tabla No. 2. Fármacos utilizados en el tratamiento de la ansiedad.



De los ansiolíticos mencionados anteriormente, los más utilizados son la Buspirona (BUS) y el clordiazepóxido (CDP) (4, 14).



Clordiazepóxido



Buspirona

Fig. No.1: (Izquierda) Nombre químico 7-cloro-5-fenil-2-metilamino-4-oxi-1,4,benzodiazepina. (en su inicio se utilizó como relajante muscular y anticonvulsivo (21, 38), (derecha) BUS(Buspirona), nombre químico: (8-[4-(2-pirimidil)-1-piperazimil]-butil)-8-azaspiro(4,5)-decano-7,9-diona, utilizado para el tratamiento de la ansiedad (21, 38).

La BUS, surge en la década de los 80's, siendo un ansiolítico que actúa sobre receptores serotoninérgicos (5-HT) del tipo 5HT<sub>1A</sub> a diferencia de las BZP que actúan a nivel GABAérgico, (8, 19, 51, 59) y es utilizada en el tratamiento de la ansiedad sin producir sedación, originando un efecto similar al Diazepam (10, 33, 47), por lo que no afecta la actividad motora o el conocimiento, posee propiedades hipnóticas-anticonvulsivas (40), se absorbe rápidamente por el tubo digestivo y se distribuye bien, sufriendo metabolismo de primer paso a nivel hepático principalmente por las reacciones de hidroxilación y N-desalquilación, dando como resultado metabolitos con actividad farmacológica. Como efectos adversos puede presentar taquicardias, molestias gastrointestinales y parestesias con mayor frecuencia que con las BZP (4, 13, 17, 21, 29).

El CDP es una de las primeras BZP, sintetizada por Stembach en 1957, produce sedación y es utilizada principalmente en el tratamiento del insomnio y la ansiedad, tiene efecto aditivo al combinarse con depresores del SNC y su biotransformación, da



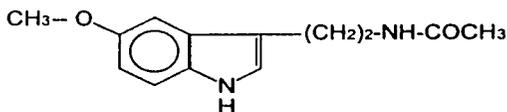
como resultado metabolitos activos como el desmetilclorodiazepóxido, demoxacepam desmetildiacepam y el oxacepam (21, 76).

En el tratamiento de la ansiedad, además de las BZP y de la BUS, existen otras azapironas, así como antidepresivos, estos últimos son preferidos en algunos casos de fobias (4, 14).

La MEL ha sido probada con efectos anticonvulsivos y en terapéutica en el tratamiento del Jet lag, motivo por el cual se ha estudiado la posibilidad de utilizar un componente endógeno que por su naturaleza provea el efecto que deseamos sin causar un daño secundario.

### 2.3 MELATONINA

La melatonina (MEL) es una hormona que al igual que otros polipéptidos se producen en la glándula pineal (G.P.), fue reconocida inicialmente por McCord y Allen en 1917, pero es hasta 1958 que Lerner y cols., la aislaron de un extracto de G.P. bovina y un año después, lograron establecer su estructura. (Fig.No.2)



Melatonina

Fig. No.2: Melatonina compuesto metoxiindólico principal hormona producida por la glándula pineal su nombre químico es 5- metoxi-N-acetiltryptamina.

La Melatonina es de naturaleza lipofílica y no ionizada. Su nombre se debe a la semejanza funcional con la melanina, ya que es capaz de producir la aclaración de la



piel de los renacuajos producto de una acumulación de melanina alrededor de los melanóforos (7, 21, 24, 36, 37, 38, 44, 76).

### 2.3.1 Biosíntesis, secreción y metabolismo

Las sustancias cuya producción se llevan a cabo en la G.P. han sido concluyentemente demostradas como indolaminas, sintetizadas a partir del triptofano circulante, de las cuales la MEL, constituye el compuesto mas aceptado y más estudiado como secreción hormonal (7, 21, 24, 37, 69, 70, 76).

La síntesis de MEL comienza con la captación del amino-ácido triptofano circulante (Fig. No.3) por parte de la G.P., probablemente mediante un mecanismo de transporte activo bajo control adrenérgico. Una vez en el pinealocito el triptofano es hidroxilado en posición 5 por acción de la triptofano hidroxilasa (TPH), para formar 5-hidroxitriptofano, el cual es convertido en 5-hidroxitriptamina (Serotonina), por acción de la L-aminoácido aromático decarboxilasa (AADA). La concentración de serotonina en la pineal es muy elevada, excediendo a la de cualquier otro órgano corporal, y presenta variaciones circadianas en la mayoría de las especies, con niveles más elevados durante las horas de oscuridad (escotofase) y menores durante las horas de luz (foto fase) (Ver Fig.No.4) (32, 35).

Probablemente como resultado de cambios en su tasa de metabolización. Parte de la serotonina pineal es convertida en 5-hidroxiindolacetaldehído por acción de la monoaminoxidasa (MAO), un producto inestable que es oxidado a ácido 5-hidroxiindolacético o reducido a 5-hidroxitriptofol (7, 21, 69, 76).



## Síntesis de melatonina

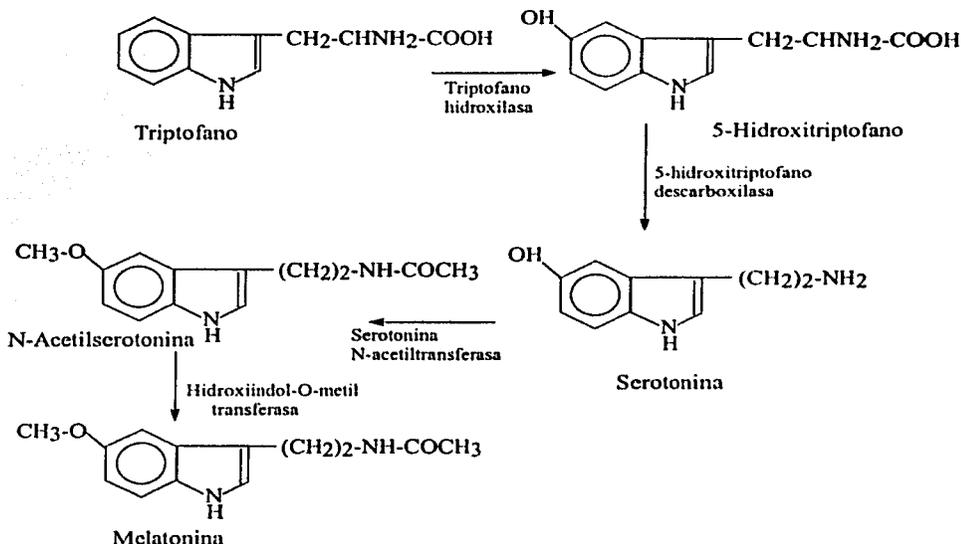


Fig. No.3: Muestra la síntesis de la Melatonina que inicia con la hidroxilación del triptofano y muestra el paso limitante en la síntesis que implica su transformación en N-acetilserotonina por acción de la N-acetiltransferasa (NAT), así como la presencia de la enzima HIOMT.

Estos dos compuestos a su vez, son convertidos en ácidos 5-metoxindolacético y 5-metoxitriptofol, el metoxitriptofol también es secretado a la circulación de acuerdo a un patrón circadiano, ejerciendo ciertas acciones endocrinas en animales experimentales. La serotonina puede ser convertida a 5-metoxitriptamina por acción de la HIOMT, compuesto del que también se ha sugerido una hipotética actividad endocrina, pero cuya secreción no ha sido demostrada (7, 21, 70, 76).



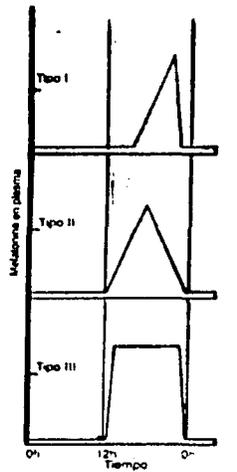


Fig. No. 4: Permite observar las variaciones de concentración de MEL en plasma durante las horas de luz y oscuridad.

La vía más importante en el metabolismo pineal de la serotonina implica su transformación en N-acetilserotonina por acción de la N-acetiltransferasa (NAT), enzima que constituye el paso limitante en la síntesis de MEL y que presenta un marcado ritmo circadiano en todas las especies estudiadas, con niveles máximos durante la escotofase. En la mayor parte de los mamíferos, la activación nocturna de la NAT se produce por un aumento en la actividad de los terminales postganglionares simpáticas con liberación de Noradrenalina (NA), la cual interacciona con receptores beta-1 en la membrana del pinealocito y causa la activación de la adenilato ciclasa a través de una proteína reguladora G, con lo que aumenta la producción intracelular de AMP cíclico y se produce la inducción o activación de la NAT, acelerándose la conversión de serotonina a N-acetilserotonina (Fig. No.5) (17, 22).



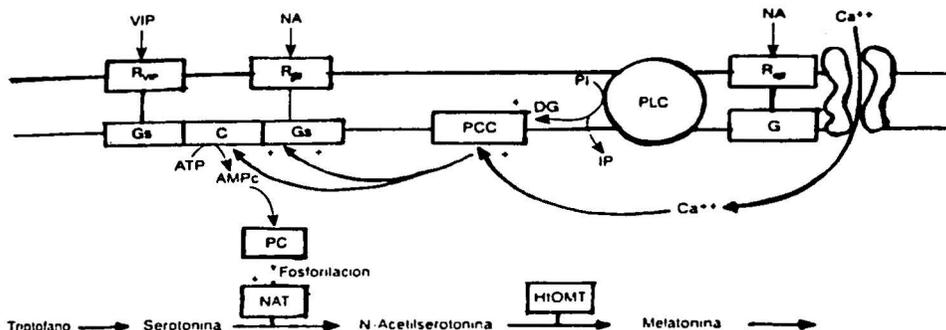


Fig. No.5: Mecanismos de transducción implicados en la síntesis de MEL en el pinealocito. C, adenilato ciclasa. DG, diacilglicerol GS, proteína-G estimuladora. IP, inositol fosfato. PLC, proteinlipasa-C. PC, proteincinasa dependiente de AMPc. PCC, proteincinasa-C,  $R_{\alpha 1}$   $\alpha$ -1-adrenoceptor,  $R_{\beta 1}$   $\beta$ -1-adrenoceptor, R-VIP, receptor de VIP.

Aunque los mecanismos moleculares implicados no son aun bien conocidos, se piensa que el AMP cíclico activa una proteincinasa dependiente del mismo e inicia la transcripción de un mRNA que, probablemente, codifica la síntesis de nuevas moléculas de NAT o, alternativamente, la producción de una proteína activadora de NAT. Adicionalmente, la NA interacciona con receptores  $\alpha$ -1-adrenérgicos, estimulando la entrada de calcio al pinealocito y la producción de diacilglicerol a partir de la hidrólisis del fosfatidil inositol, lo que lleva a la translocación y activación de una proteincinasa dependiente de calcio (PCC). Probablemente esta última estimula la fosforilación rápida de algún componente del sistema, potenciando la acción beta-adrenérgica. Además de estos mecanismos adrenérgicos, en la pineal de diversas especies se ha demostrado la presencia de ciertos neuropéptidos, como el VIP y el NPY, que podrían ser coliberados



con la NA de las terminales simpáticas y contribuir a una modulación de la estimulación adrenérgica. Por otra parte, se ha descrito la existencia de fibras nerviosas pinealopetales procedentes, fundamentalmente, de la región habenular. Estos hechos y la presencia de sitios de unión para diversos neurotransmisores en la pineal de los mamíferos ha llevado a pensar que, tal como ocurre en otras estructuras neuroendocrinas, la actividad pineal está sometida a una regulación compleja en la que la información foto periódica básica es modulada por señales procedentes del SNC (7, 21, 36, 38, 42, 76).

Finalmente, la N-acetilserotonina es convertida en MEL por acción de la HIOMT, enzima que se encuentra en unos pocos órganos, además de la G.P., como la retina, los eritrocitos y la glándula harderiana de los roedores (10, 23, 30)

Debido a su alto grado de solubilidad en lípidos, una importante cantidad de MEL es liberada a la circulación a medida que se sintetiza, probablemente a través de un mecanismo de difusión. La MEL circulante es transportada en plasma unida a la albúmina (60-70%) y en forma libre (30-40%). La mayor parte de la MEL circulante es inactiva mediante conversión hepática a 6-hidroximelatonina, la cual es excretada en la orina en forma de compuestos sulfatados (75%) o glucurónidos (5%), y cuya determinación en orina constituye un método no invasivo para monitorizar la función pineal en el humano. Otra parte de la MEL circulante es transformada en el cerebro en compuestos derivados de la quinurenamina (15%), y únicamente una pequeña porción es eliminada por la orina en forma libre (0.5%) el metabolismo general se presenta en la figura No. 6 (17, 22).



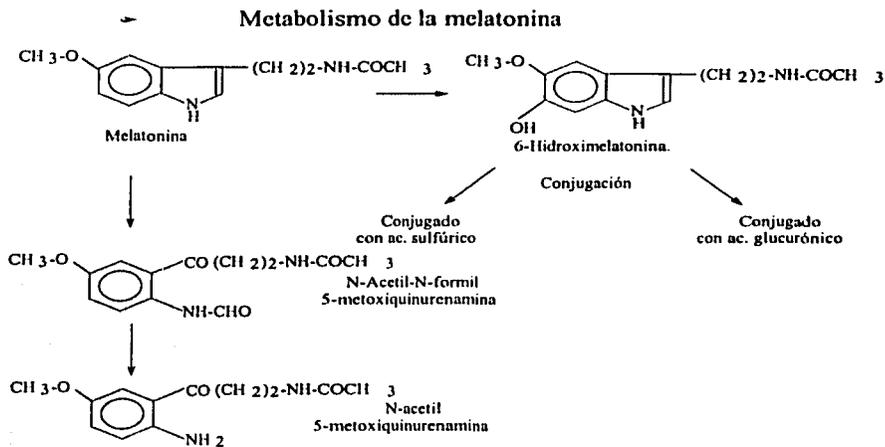


Fig. No.6: Metabolismo de la Melatonina que inicia gracias a su característica lipofílica que le permite su liberación a la sangre por mecanismos de difusión.

La secreción de la MEL esta asociada a ciclos de luz-obscuridad, existiendo ligeras diferencias entre las distintas especies. Los ciclos estacionales también afectan la secreción de MEL. Se ha visto que en roedores y rumiantes el alargamiento en la duración de la noche debido a la estación, va acompañado de periodos más largos de MEL elevada. En el caso del humano se ha descrito un ritmo circulante en los niveles plasmáticos de MEL, con valores más altos durante los meses en invierno y verano, e inferiores durante primavera y otoño. La edad juega otro factor importante en la secreción de MEL; la secreción nocturna de MEL presenta importantes cambios a lo largo de la vida tanto en el hombre como en los animales (6, 41, 43). En el humano los niveles nocturnos de MEL en plasma se elevan desde el nacimiento hasta la edad puberal, probablemente como resultado de la maduración de los mecanismos neurales que controlan la actividad pineal, para descender en dos fases:



- Gradual desde la adolescencia a la edad adulta en que se estabiliza.
- En la edad avanzada, en que la concentración plasmática de MEL es muy reducida.

Estímulos adversivos también afectan la secreción de MEL, en roedores está implicada en el estrés, mientras que en humanos se ha relacionado solamente en mujeres tras la realización de ejercicio físico (6, 41, 48, 52, 53, 75).

Finalmente, la secreción de MEL también es afectada por diferentes secreciones endocrinas, especialmente las relacionadas con la función reproductora en los mamíferos. En el hombre, aunque sin relación causal alguna, se ha visto una reducción en la pubertad debida a la secreción de gonadotropinas y testosterona. Un efecto importante ha sido observado tanto en mujeres como en ratones hembra, en donde la secreción de MEL es reducida antes de la ovulación, debido a un incremento de los esteroides plasmáticos (6, 10, 37, 41, 52).

### **2.3.2 Efectos de la melatonina**

La MEL produce diversos efectos, los cuales dependen de las especies estudiadas. En peces, anfibios y reptiles la pineal actúa como un transductor foto y termo-neuroendocrino, adecuando los ritmos internos a los ambientales. En roedores, la secreción de MEL tiene función sincronizadora, mientras que en primates y humanos la administración de MEL exógena es capaz de sincronizar el ciclo sueño vigilia en sujetos ciegos, así como aminorar los síntomas originados tras los vuelos transoceánicos. Este efecto sincronizador también se ha sugerido entre la madre y el feto, sincronizando el



reloj biológico endógeno, antes de que se desarrollen los mecanismos cronobiológicos individuales (5, 6, 7, 41, 42, 52, 66).

En diversas especies, tanto *in vivo* como *in vitro*, la MEL es capaz de afectar el eje gonadal a todos sus niveles, incluyendo la liberación hipotalámica de GnRH, la respuesta de los gonadótrofos hipofisarios, la secreción de gonadotrofinas y prolactina, la síntesis de esteroides gonadales o la respuesta de los órganos diana periféricos. Los efectos más comúnmente observados son de carácter inhibitorio, pero dependen en gran medida de la especie, la hora de la administración, fisiología del órgano blanco y diversas circunstancias ambientales (10, 39, 42, 66).

La G.P. participa en el control del desarrollo puberal en roedores. Algunos autores sostienen que la relación inversa entre MEL circulante y edad en la infancia y adolescencia no se refiere necesariamente al desarrollo sexual, sino a la maduración esquelética, lo que estaría de acuerdo con la relación recíproca que se ha observado entre la secreción de hormona del crecimiento y la MEL en respuesta a la inyección de GRF, tanto en humanos como en animales experimentales (5, 17, 22).

En afecciones psiquiátricas y trastornos del humor se han encontrado alteraciones en la secreción nocturna de MEL, reducida en pacientes con depresión y elevada en enfermos maniaco-depresivos (12, 13, 14, 18, 40).

La MEL inyectada ejerce efectos sobre las gónadas, inhibiendo su función en algunos casos y facilitándolo en otros. Esta variabilidad ha conducido a la hipótesis de que no es la MEL en sí, sino los cambios diurnos en la secreción de ella lo que funciona como una especie de señal de tiempo que coordina los fenómenos internos con el ciclo luz-obscuridad del ambiente. Esto puede ser correcto, en especial en el apareamiento



estacional de animales, que responden a cambios de longitud del día. No obstante, los fenómenos que se regulan en el hombre no se han identificado (3, 25, 30, 32, 43).

Se ha argumentado que la pineal normalmente inhibe el inicio de la pubertad en las personas debido a que tumores pineales algunas veces se acompañan con precocidad sexual. Hay pruebas de que los tumores pineales producen precocidad solo cuando lesionan el hipotálamo y, excepto por una pequeña elevación de MEL durante el desarrollo mamario en las niñas, no hay cambios significativos en la excreción de MEL durante la pubertad. Por tanto, la función de esta y de la pineal en el hombre permanece obscura (43, 63, 64).

#### **2.4 DESCARGA NORADRENERGICA.**

La división noradrenérgica descarga como una unidad en situaciones de emergencia los efectos de esta descarga son de considerable valor para preparar al individuo a enfrentarse a urgencias, por ejemplo, la descarga noradrenérgica relaja la acomodación y dilata la pupila (permitiendo la entrada de más luz a los ojos), acelera los latidos cardiacos y eleva la presión arterial (aportando mejor riego sanguíneo a los órganos vitales y a los músculos), provoca constricción de los vasos sanguíneos de la piel (lo que limita la hemorragia por heridas), la descarga noradrenérgica también disminuye el umbral de la formación reticular (reforzando el estado de alerta) y aumentando tanto la glucemia como los ácidos grasos libres (proveyendo más energía). Sobre la base de efectos como estos, con un llamado a la descarga del sistema nervioso noradrenérgico inducida por la urgencia (21, 38, 45).

El énfasis en la descarga masiva en las situaciones de estrés no debe obscurecer el hecho de que las fibras autónomas noradrenérgicas también cumplen



otras funciones, por ejemplo, la descarga tónica noradrenérgica a las arteriolas mantiene la presión arterial y las variaciones de esta descarga tónica constituyen el mecanismo por el cual es realizada la regulación de la presión arterial mediante la retroacción que se inicia en el seno carotídeo, además, la descarga simpática esta disminuida en los animales en ayuno y aumenta cuando estos son alimentados de nuevo, estos cambios pueden explicar la disminución de la presión arterial y la tasa metabólica producida por el ayuno y los cambios opuestos producidos por la alimentación (21, 38, 45).

Las pequeñas vesículas granuladas en las neuronas noradrenérgicas posganglionares contienen ATP y noradrenalina y las vesículas grandes granuladas contienen neuropéptido "Y". Existe testimonio de que la estimulación de baja frecuencia promueve la liberación de ATP, mientras que la de alta frecuencia provoca liberación de neuropéptido "Y". Sin embargo, no se han determinado las funciones del ATP y el neuropéptido "Y" liberados.

## **2.5 Eje Hipotalámico-Hipofisario**

El eje hipotalámico-hipofisario tiene una especial relevancia fisiológica puesto que coordina los dos sistemas reguladores más importantes del organismo, el Sistema Nervioso y el Sistema Endocrino. Este eje de unión percibe los estímulos de origen externo y endógeno (captados por el Sistema Nervioso), y los transmite o codifica al Sistema Endocrino para llevar a cabo una acción fisiológica. Así toda la acción hormonal está coordinada por el sistema nervioso, pero la acción nerviosa también está modulada por la acción de este por un sistema de retroalimentación o feedback (17, 22, 45).



Así por ejemplo, el Sistema Nervioso puede captar un peligro inminente, como en el caso de la ansiedad, por lo que este comunicará rápidamente a las glándulas endocrinas la necesidad de elaborar hormonas que pondrán en marcha todos los mecanismos fisiológicos de defensa. Del mismo modo un determinado estado hormonal puede determinar cómo el Sistema Nervioso es capaz de percibir la realidad que le rodea y reaccionar ante ella.

Son muchos ya los autores que aceptan plenamente la interrelación entre Sistema Nervioso, Sistema Endocrino, y Sistema Inmune, dándoles a estos un papel rector en la fisiología general y patológica del organismo. De este modo estos tres sistemas serían objeto de estudio de una Ciencia relativamente nueva, denominada Psicoinmunoendocrinología (17, 22, 45).

### **2.5.1 Fisiología del eje Hipotalámico-Hipofisario.**

El sistema endocrino tiene un modo de acción característico. En primer lugar porque actúa a bajísimas concentraciones (lo que hace que sus acciones perduren en el tiempo). Por otro lado las hormonas actúan en localizaciones anatómicas que distan mucho de su lugar originario de liberación. El sistema endocrino se distingue así de otros sistemas ya que siempre liberan el producto de su secreción (las hormonas) al torrente sanguíneo, de modo que se distribuyen por todo el organismo. Cuando estas hormonas encuentran las células diana con los receptores adecuados sobreviene la acción hormonal.



## 2.5.2 Las Hormonas Hipotalámicas, Neurohormonas.

### Las Hormonas Adenohipofisarias

La liberación de estas hormonas vienen determinadas por la secreción hipofisaria de sus hormonas liberadoras. Estas hormonas accederán desde el Hipotálamo al sistema circulatorio "porta Hipotalámico-Hipofisario", para llegar así a la hipófisis, ejerciendo su control sobre la liberación de estas hormonas (17, 22, 45).

Las hormonas adenohipofisarias se llaman también hormonas tróficas (en contraposición de las hormonas liberadoras o neurohormonas). Estas hormonas tienen la función de "alimentar" al órgano diana que tendrá al final la función de elaborar propiamente las hormonas funcionales. En sí mismo estas hormonas no tienen más función que regular la secreción de hormonas por el órgano diana (17, 22, 45).

Neurohormona Hipotalámica	Hormona Hipofisaria	Glándula	Hormona de la glándula
GH-RH o GH-RIH	GH	Hígado, Músculo	Somatomedinas
TRH	TSH	Tiroides	T3 y T4
CRH	ACTH	Corteza Adrenal	Corticoides
Gn-RH	FSH y LH	Gónadas	Hormonas sexuales
PIF y PRF	Prolactina	Mama	-

Tabla No.3: Resumen de Neurohormonas hipotalámicas, Hormona Hipofisaria, la glándula en la que se encuentran.

## 2.6 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS FÁRMACOS

Los fármacos actúan por medio de la interacción entre el fármaco mismo y un sitio de acción específico, lo que se ha denominado biofase. Los fármacos potentes como adrenalina, atropina y ouabaina por mencionar algunos, actúan a pequeñas dosis y su acción farmacológica se debe a la presencia de grupos químicos especiales que



les permiten combinarse con receptores celulares también especiales, razón por la cual se denominan fármacos de acción específica y que es una acción presente en fármacos con estructuras químicas parecidas. En los fármacos de diferente estructura química y acciones farmacológicas similares interviene un mecanismo físico (acción no específica), como en el caso de los anestésicos generales. De ahí que se pueda dividir la acción de los fármacos en estructuralmente específica y estructuralmente no específica (21, 38).

### 2.6.1 Fármacos de acción específica

La mayoría de los fármacos generalmente son muy potentes y actúan a dosis pequeñas, su acción farmacológica esta en relación con grupos químicos funcionales que se unen con los receptores celulares y se denominan fármacos de alta selectividad (21, 38).

Los receptores son estructuras moleculares situados en la biofase, generalmente en la membrana celular, pero también a veces en el interior de la célula efectora con las cuales interactúa el fármaco para producir una respuesta determinada. Son macromoléculas proteicas de las células y constituyen entidades tridimensionales de forma aproximada a las moléculas del fármaco, por lo que pueden unirse fácilmente formando un complejo unido por enlaces químicos (21, 38).

Para establecer el mecanismo de acción de un fármaco, es necesario primero encontrar las relaciones de magnitud entre la dosis del fármaco y la intensidad de los efectos producidos o respuestas, lo que da lugar a la llamada *curva dosis-respuesta* que corresponde, a una expresión matemática. Dicha curva puede establecerse



mediante estudios efectuados en animales íntegros, órganos, células aisladas, siendo más exactos los realizados en estos dos últimos casos, ya que se evitan las variables de absorción, transformación química y excreción, que ocurren en los seres vivos. Las respuestas registradas pueden ser de dos tipos, graduales (CDRG) o cuantales (CDRC) y generan información acerca de la DE50 poblacional o bien la DE50 que determina cuando la mitad de los receptores involucrados en la acción farmacológica se encuentran ocupados. Estos estudios también sirven para determinar margen de seguridad e índice terapéutico en el caso de las CDRC o incluso hacer estudios de potencia y eficacia en el caso de las CDRG (21, 38).

### **2.6.2 Mecanismo y lugares de Acción de la Melatonina.**

Aunque se desconoce el mecanismo de acción de la MEL, estudios en roedores y reptiles sugieren que sus efectos se ejercen a través de la activación de una proteína-G inhibidora, la cual causaría inhibición de la adenilato ciclasa y reducción en la producción de AMPc intracelular. Hipotéticamente, este mecanismo podría ser el mediador en la acción moduladora que la MEL ejerce sobre la liberación de varios neurotransmisores in vitro, como la dopamina (DA), o el ácido gamma aminobutírico (GABA) (15, 16, 19, 21, 38, 54, 71).

Mediante técnicas de autorradiografía, se han localizado sitios de unión para la MEL, que parecen ser específicos, saturables y reversibles, aunque con una distribución muy diferente según la especie de que se trate. (tabla No.4).

Se ha planteado la hipótesis de que los lugares de unión para la MEL estén, en realidad, difusamente distribuidos por todos los órganos corporales, presentando



ritmicidad circadiana en su estado funcional y estando sujetos a regulación por la propia MEL circulante (15, 19, 68, 71).

Especie	Localización
Humanos (Cerebro)	Supraquiasmático(NSQ) del hipotálamo.
En Roedores	Lugares de unión en la eminencia media núcleo arqueado, pars tuberalis de la hipófisis anterior, hipocampo, retina y una pequeña porción del plexo coroideo así como en la propia pineal
En Aves	Diversos núcleos sensoriales.
En ovejas	Pars tuberalis de la adenohipófisis

Tabla No.4: muestra Los sitios de localización de lo receptores para MEL en cuatro diferentes especies (15, 19)

### 2.6.3 Receptores de Melatonina

El uso de radioligandos [ $^3\text{H}$ ]-melatonina y 2- $^{125}\text{I}$ ]-iodomelatonin han ayudado a la localización y caracterización de sitios de unión con propiedades farmacológicas distintas y bien definidas. La primera clasificación de supuestos receptores a MEL fue ML1 y ML2 basadas en diferencias farmacológicas y cinéticas de enlaces con 2- $^{125}\text{I}$ ]-iodomelatonina, lo cual se debe al grado de afinidad que estos presentan por la iodomelatonina así como a diferentes propiedades farmacológicas y cinéticas, los receptores ML1, se han subdividido en 3 subtipos, ML1a, ML1b, y ML1c, los cuales han sido determinados por hibridación "in situ" de mRNA, mediante la reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa reversa y autoradiografía con iodomelatonina (15, 19, 71, 77). Los receptores a MEL, se han encontrado en tejidos tanto neurales como no neurales de varias especies de vertebrados incluyendo al hombre, y la distribución de los mismos puede cambiar tanto en especie como en SEXO (16, 20, 54, 71, 77).



Los receptores a MEL en la retina y los colículos superiores están implicados en la regulación de funciones visuales, mientras que los localizados en el NSQ del hipotálamo, están relacionados con los ciclos circadianos y reproductivos. Los receptores a MEL en el núcleo paraventricular del tálamo, se relacionan con la función límbica. Los receptores no neuronales del pars tuberalis están relacionados con los ciclos reproductivos, mientras que los que están en arterias tanto cerebrales como caudales regulan la función cardiovascular y de temperatura (16, 20, 71, 77).

Se han propuesto mecanismos diferentes para ambos tipos de receptores, de ahí que los receptores ML1 se caractericen por pertenecer a la familia de receptores acoplados a proteína G y que son capaces de inhibir la adenilato ciclasa, se han relacionado con los ritmos circadianos y la reproducción, en cambio, los receptores ML2, pertenecen a los receptores que activan la hidrólisis de fosfoinositol vía proteína G, sin embargo, su localización presenta diversas dificultades y por lo tanto es difícil de predecir sus funciones fisiológicas, en ambos casos, estos receptores son dependientes de GTP, el cual mediaría sus posibles acciones sobre las enzimas como la adenilato ciclasa y la fosfolipasa (16, 71, 72, 76).

Recientemente los estudios han dado como resultado la supuesta existencia de 3 tipos diferentes de receptores llamados MT1, MT2 y MT3, los cuales sugieren las siguientes características:(Tabla No.5)



Tipo de Receptor	MT1	MT2	MT3
Sub tipo de Receptor	-	-	-
Código de Receptor	2.1.MLT.01.000.00.P	2.1.MLT.02.000.00.00	2.1.MLT.03.000.00.00.P
Nombre Anterior	Mel <sub>1a</sub> , MEL <sub>1A</sub> , ML <sub>1A</sub>	Mel <sub>1b</sub> , MEL <sub>1B</sub> , ML <sub>1B</sub>	ML <sub>2</sub>
Información Estructural	7TM h 350aa, P48039, chr.4q35.1, Q61184.	7TM, h 363aa, P49286, chr.11q-21-22	Ninguna
Valoración funcional	Potenciación de la vasoconstricción en la vena caudal de la rata. Inhibición de estimulación cAMP en células pars tuberalis de Borrego. Inhibición de disparo neuronal en núcleo supraquiasmático en ratón.	Inhibición de liberación de dopamina en retina de conejo.	Incrementa el regreso de PI en células RPM1 de hámster
Agonista Selectivo	Ninguno	Ninguno	GR135531
Mecanismos de transducción	Inhibición del AMPc a través de la activación de un receptor recombinante	Inhibición de cAMP	Incrementa el regreso de PI en células RPM1 de hámster
Distribución de Receptores	NSQ, pars tuberalis, núcleo talámico, cerebelum humano, hipotálamo, hígado, epitelio intestinal.	Retina, hipocampo, cerebro	Cerebro de hámster, hígado, testículo, cerebro de ratón.
Tejido Funcional	No establecido	Inhibición de liberación de dopamina de retina, fase de ritmos circadianos	No establecidos
Comentarios	No hay radioligandos selectivos, o un radioligando relacionado o ensayo funcional de tejido original en el cual la proteína receptor mt1 ha sido caracterizada.	No hay radio ligando selectivo agonista o ensayo en un tejido original con el cual la proteína del receptor mt2 ha sido caracterizada.	Este receptor no ha sido clonado. No se ha establecido aún la potencia antagonista.

Tabla No. 5: Receptores de MEL, la cual muestra diferentes características como: tipo de receptor, valoración funcional, mecanismos de transducción así como su distribución entre otros aspectos<sub>(71)</sub>.

## 2.7 MODELOS DE ANSIEDAD

Para caracterizar un fármaco ansiolítico es necesario utilizar un modelo adecuado, esto se debe a que existen diversos estados de ansiedad y por lo tanto cada



prueba tiene a su vez una aplicación restringida, tanto por la biología del modelo animal como por la especificidad del estado de ansiedad que provoca cada prueba. Muchos de los nuevos fármacos ansiolíticos tienen efectos colaterales como sedación, relajación muscular, ataxia, disminución de la coordinación motora en movimientos finos, etc; razón por la cual es necesario echar mano de nuevos modelos experimentales que cubran criterios correlacionales, isomórficos y homológicos, que presenten resultados confiables. En la investigación preclínica se necesita de un modelo experimental animal que sea confiable, reproducible y específico (27, 60, 65, 74).

El mejor modelo para el estudio de la ansiedad deberá contar por lo menos con 3 características:

1. No dar falsos positivos, donde la actividad se presenta en el modelo pero no en casos clínicos.
2. No dar falsos negativos, debidos a que el fármaco no es detectado por el modelo, y que este si tenga una actividad en casos clínicos.
3. Que tenga una fuerte correlación entre la eficacia clínica y la actividad mostrada en el modelo.

Actualmente, los modelos que permiten evaluar el perfil ansiolítico, recurren a estímulos nocivos como choques eléctricos, situaciones estresantes y procedimientos como privación de agua y alimento sin relación alguna con un caso clínico.(ver ANEXO III).

Uno de los mejores modelos para realizar una correcta evaluación de la Ansiedad es el Plus-Maze elevado, del cual se han reportado varios trabajos que demuestran que es un modelo confiable, reproducible y específico.



El **Plus-Maze** es un modelo que se basa en el comportamiento explorador de los roedores, en donde los laberintos elevados y abiertos, crean un conflicto cuando los roedores se acercan o alejan de los bordes (27, 28, 65). Fue desarrollado y validado por Pellow et al. (1985).

En este modelo, las ratas prefieren los brazos o zonas cerradas, lo cual se refleja por el número de entradas así como el tiempo de permanencia en los mismos y que es mayor al compararlo con el número de entradas y tiempo de permanencia en las zonas o brazos abiertos, ya que estos últimos reflejaban una aversión provocada por la ansiedad debida a lo novedoso de la situación; por otro lado, la entrada y salida total de los brazos no representa una correlación de la actividad motriz. (11, 50, 58, 74).

Este modelo experimental además de ser barato y sencillo, es rápido y está basado en cuantificar el comportamiento espontáneo de los roedores sin tener algún estímulo que pueda representar un condicionamiento. Además, es capaz de diferenciar entre compuestos con efecto ansiolíticos y ansiogénicos ha sido empleado por un gran número de investigadores de tal forma que en los cinco años anteriores a 1996, ha sido reportado su uso en más de 100 laboratorios de investigación así como en muchas compañías farmacéuticas para la evaluación tanto de la ansiedad como de nuevos compuestos con potencial ansiolítico (11, 27, 65).



### 3.0 OBJETIVOS

#### 3.1 *Objetivo General*

- ◆ Determinar el efecto ansiolítico producido por la administración de la hormona MEL a diferentes dosis, al ser administrada IcVtr en ratas, empleando el modelo de Plus-Maze.

#### 3.2 *Objetivos Particulares*

- ◆ Evaluar el efecto ansiolítico de la MEL administrada IcVtr en ratas, utilizando el modelo Plus-Maze.
- ◆ Observar el comportamiento de actividad de las ratas en experimentación, para evaluar su estado ansioso.
- ◆ Administrar diferentes dosis de MEL IcVtr, para establecer la relación entre la dosis y el efecto ansiolítico.



## 4.0 HIPÓTESIS

- ◆ Si el hipotálamo, es una zona cerebral que puede estar involucrada en la regulación de la ansiedad, entonces la administración de un compuesto con propiedades "ansiolíticas" como la Melatonina, producirá un efecto ansiolítico al ser administrado icVtr en ratas y que podrá ser evaluado en el modelo Plus-Maze.
  
- ◆ Si la MEL es una hormona que tiene receptores específicos en el hipotálamo entonces encontraremos una dosis que permita la saturación de los receptores dando un efecto ansiolítico máximo.



## 5.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La ansiedad es un comportamiento común del individuo, sin embargo, por diversas causas o motivos puede llegar a situaciones extremas en donde tiende a desencadenar patologías dando origen a la depresión la cual es difícil de tratar (17, 21, 67).

Los fármacos utilizados en el tratamiento de la ansiedad se denominan ansiolíticos, son de uso prolongado, por lo cual se tienen ciertas precauciones en su uso, debido a la presencia de reacciones adversas (21, 38). Estos fármacos, actúan sobre diferentes receptores entre los que tenemos el GABA que es el caso de las BZP o bien de tipo serotoninérgico, como la BUS. Hasta la fecha, se ha reportado que las BZP no solo tienen un efecto ansiolítico, sino que también producen reacciones adversas, motivo por el cual la MEL puede ser un fármaco alternativo que puede ayudar al tratamiento de la ansiedad.

En el caso de la MEL, su mecanismo de acción puede ser mediado por receptores a GABA, vías serotoninérgicas o bien ambos. También se han realizado estudios sobre diferentes zonas del cerebro que pueden estar relacionadas con la ansiedad, entre las zonas de las cuales se tiene referencia, están la amígdala central y baso lateral, el núcleo medio del raphe, el periacueducto dorsal gris, hipocampo dorsal y el septum.

En el presente, trabajo se utiliza la MEL que es la principal hormona de la G.P. y que se ha reportado con efecto ansiolítico (4, 46, 47) y de la cual se desconoce su mecanismo de acción.



A este compuesto se le caracterizará el efecto ansiolítico postadministración vía intracerebroventricular (IcVtr) en la rata, ya que se ha reportado que en la administración IcVtr, la MEL tiene un efecto ansiolítico (47).

El efecto ansiolítico se evaluará en el modelo del PLUS-MAZE que utiliza un comportamiento conductual de los animales sin estímulos nocivos, y situaciones estresantes controladas que no solo alteran la conducta del animal, sino que también son situaciones que están muy relacionadas con la ansiedad, además, el PLUS-MAZE es un modelo de ansiedad en el cual fármacos como el Diazepam (conocido como fármaco estándar, para estudios de comparación como ansiolítico) (56, 62), han presentado mejores resultados que con los métodos que utilizan estímulos nocivos.

Este trabajo, permitirá verificar si la MEL tiene un efecto ansiolítico al ser administrada a este nivel, así como obtener una curva dosis-Respuesta, para establecer la concentración en la cual se obtiene su efecto máximo como ansiolítico. Las manifestaciones de conducta de las ratas nos podrán proponer que las estructuras que rodean a los ventrículos como el hipotálamo, tienen o no, relación con el proceso de la ansiedad, además de indicar si el efecto es mediado por receptores.



## 6.0 MATERIAL Y MÉTODOS

### Material Biológico

Se utilizaron 56 ratas macho de la cepa Wistar con peso de los 250-300 g. Todos los animales provienen del Bioterio de la Facultad de Química y no han sido sometidos a experimentación previa. Los animales de experimentación se mantienen en cajas individuales de acrílico transparente de dimensiones 35 x 35 x 25 cm y rejilla de acero inoxidable. Las condiciones en el período de recuperación para los animales en experimentación se mantuvieron constantes, en un laboratorio cerrado bajo ciclos de luz-oscuridad 12:12, con acceso libre de agua y alimento (Purina Rat Chow).

### Material Quirúrgico

- Pinzas bulldog (Miltex)
- Pinzas de disección (Miltex)
- Pinzas de disección con dientes (Miltex)
- Bisturi (mango #4) (Miltex)
- Hojas de bisturi #22 (Miltex)
- Tijeras curvas largas (Miltex)
- Tijeras curvas cortas (Miltex)
- Tijeras rectas largas (Miltex)
- Porta agujas (Miltex)
- Sutura absorbible con aguja 4-0 Dexón



### Soluciones

Benzal al 10% diluido en agua destilada

Polietilenglicol 200 (PEG 200) al 35% (J.T.Baker)

Acrílico Blanco con disolvente (Arias).

Formaldehído al 10% (J.T.Baker).

### Fármacos y Reactivos

Hidrocilina 400, suspensión inyectable, Lab. Grossman.

Melatonina (Sigma), preparada a 5, 10, 20, 40 y 60 mg/ml en Polietilenglicol (J.T. Baker) 200 al 35% (\*).

Anestésal (SmithKline-Beecham), Pentobarbital Sódico 63 mg/mL.

\*NOTA: Revisar dosis correspondientes en Anexo No.

### Equipo Fijo y Aparatos

Plus-Maze: Este equipo se fabricó en la Facultad de Química en el área de Proyectos especiales.

Mesa de de cirugía con plancha térmica (C.F. Palmer).

Estererotáxico con torre (David Kopf).

Taladro dental (Emesco con banda No. 908, vel. 12000 r.p.m. y 1/8 H.P).

Rasuradora (WHAL Senior mod. 850).

Jeringa Hamilton de 10  $\mu$ L.

### Procedimiento

Se formaron 8 grupos aleatoriamente con una n de 7, los cuales recibieron el siguiente tratamiento:



- GRUPO 1: Grupo control ratas íntegras
- GRUPO 2: Grupo control ratas operadas sin tratamiento
- GRUPO 3: Grupo control ratas operadas con administración de PEG al 35% como vehículo.
- GRUPO 4: Grupo de ratas operadas tratadas con Melatonina 5 mg/mL
- GRUPO 5: Grupo de ratas operadas tratadas con Melatonina 10 mg/mL
- GRUPO 6: Grupo de ratas operadas tratadas con Melatonina 20 mg/mL
- GRUPO 7: Grupo de ratas operadas tratadas con Melatonina 40 mg/mL
- GRUPO 8: Grupo de ratas operadas tratadas con Melatonina 60 mg/mL

#### DISEÑO EXPERIMENTAL:

Todos los experimentos se realizaron entre las 12:00 y las 16:00 h. El laboratorio donde se llevaron a cabo tiene dimensiones de 2.50 X 6.00 m. Se aisló para evitar que entrara más luz que la proporcionada por las lámparas del laboratorio. La luz utilizada fue roja que permite una iluminación de (80 lux).

Una vez que las ratas operadas cumplen su periodo de recuperación de por lo menos una semana, se someten a experimentación, en donde se evaluaron los siguientes parámetros que influyen en la caracterización del efecto ansiolítico por evaluar.

#### A. Influencia de la cirugía sobre el comportamiento de los animales en el modelo de Plus-Maze.

Los grupos 1, 2 y 3 los cuales tienen una n=7 cada uno, fueron sometidos al modelo de Plus-Maze con luz roja, durante 5 minutos, se realizó la comparación del grupo control íntegro con el grupo de las ratas operadas.



### B. Caracterización del efecto ansiolítico de los vehículos.

El vehículo utilizado para disolver la MEL y hacer las diferentes concentraciones para el estudio fue el polietilenglicol (PEG 35%), por lo que fue necesario administrar a un grupo de ratas únicamente el vehículo y así evaluar si existe una influencia natural por este. Fue administrado Icvtr (grupo 3), evaluando su efecto ansiolítico bajo las mismas condiciones que los otros tratamientos en el modelo de Plus-Maze elevado.

### C. Caracterización del efecto ansiolítico de la Melatonina a diferentes concentraciones.

Las soluciones fueron administradas Icvtr en las ratas y se evaluó su efecto ansiolítico en el modelo del Plus-Maze bajo las mismas condiciones de luz, tipo de tratamiento y tiempo de evaluación.

*Nota:* Para evitar que los resultados fueran influidos por el grado de entrenamiento en la cirugía, se decidió aplicar los tratamientos aleatoriamente.

## **IMPLANTACIÓN DE CÁNULA INTRACEREBROVENTRICULAR (Icvtr).**

La rata se anestesió con una dosis de 45 mg/Kg de ANESTESAL vía intraperitoneal (IP), se rasuró la parte superior de la cabeza con la ayuda de una rasuradora eléctrica, para después colocar a la rata sobre un colchón y una plancha térmica. La cabeza se fijó en un estereotáxico y se realizó una asepsia con benzal diluido al 10% sobre la zona rasurada. Sobre la línea media sagital se hace un corte separando piel y periostio para dejar al descubierto el cráneo. Con la ayuda del atlas estereotáxico para rata <sup>(49)</sup> se obtuvieron las coordenadas del ventrículo lateral derecho del cerebro de la rata<sub>(46)</sub>.



Se establecieron las coordenadas para la colocación de la cánula Icvtr., las cuales son: 0.8 mm posterior y 1.4 mm derecha con respecto a bregma (fig. No.7 atlas), en ese punto, se hace un trepano para la colocación de una cánula de acero inoxidable de 1 cm de longitud la cual se hizo con agujas de 21 X 32 mm. Una vez obtenidas las coordenadas y con la ayuda de la torre del estereotáxico, se coloca la cánula y se fija a 3.6 mm de profundidad con acrílico dental y un tornillo que se fija al cráneo de la rata.

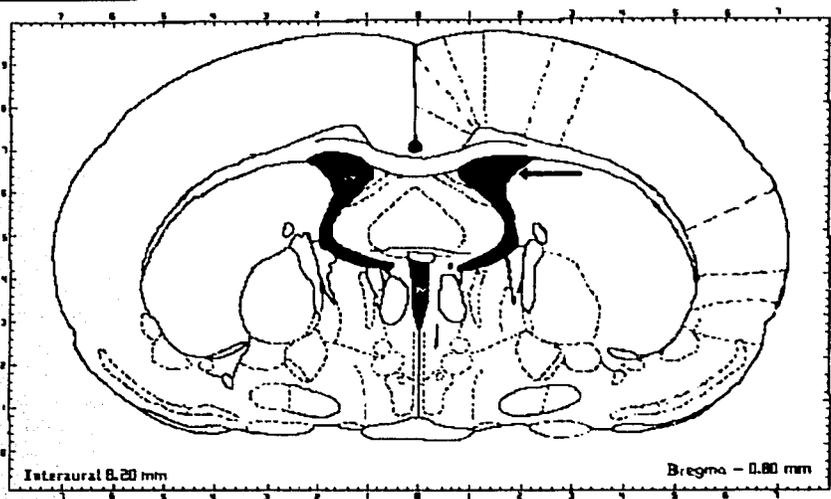


Fig. No. 7: Diagrama del Atlas del Cerebro de la rata, que muestra las coordenadas utilizadas para la colocación de la cánula en el ventrículo lateral de las ratas en experimentación.

Una vez operados los animales, se les administra 0.2 mL (equivalente a 20 000 U.I. de penicilina) de una suspensión de hidrocilina por vía intramuscular (IM) en administración única. Se colocaron en cajas individuales y se dejaron recuperar como



mínimo una semana bajo las condiciones descritas. En caso de infección en la zona operada, se realizó una asepsia con agua oxigenada y violeta de genciana.



Fig. No. 8: (Izquierda) Estereotáxico, (Derecha) Implantación de cánula.

## CARACTERIZACION DEL EFECTO ANSIOLITICO

### Administración Icvtr

Una vez transcurrida la semana de recuperación después de la operación, se realizó la administración de las sustancias así como el vehículo entre las 14:00 y las 16:00 hrs., ya que en ese horario la secreción de MEL es mínima. Se administraron los fármacos utilizando agujas dentales con una longitud de 11 mm en uno de los extremos, mientras que el otro se une a una cánula de plástico con una longitud de 15 cm aproximadamente. Esta cánula se acopló a una micro jeringa Hamilton de 10  $\mu$ L, con la cual se administraron las soluciones de MEL y el vehículo.



## Experimentación con el modelo de Plus-Maze.

### Descripción del modelo:

El Plus-Maze consiste en un laberinto elevado que tiene forma de cruz, consta de 2 zonas o brazos abiertos con dimensiones de 50 X 10 cm y los cuales están encontrados, y dos zonas o brazos cerrados también encontrados y con dimensiones de 50 X 10 X 40 cm, en la zona de intersección de los cuatro brazos, se forma un cuadro central cuyas dimensiones son de 10 X 10 cm, este cuadro es abierto, el Plus-Maze se encuentra sostenido por una plataforma que lo mantiene a 50 cm elevado del piso (11, 27, 50, 58, 65, 73).

Las paredes y el piso del Plus-Maze así como la base que lo mantiene elevado son de madera pintada y barnizada, las paredes que cubren los brazos cerrados son de color negro, mientras que el piso de los cuatro brazos así como de la base es de color gris claro.

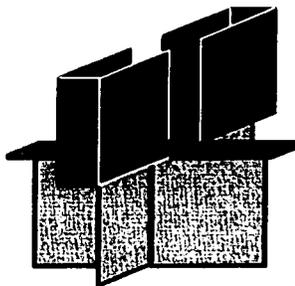


Figura 9: Modelo Plus-Maze el cual es un laberinto en forma de cruz, elevado del piso 50 cm, que cuenta con dos brazos abiertos y dos brazos cerrados (opuestos entre sí).



Metodología en el modelo de Plus-Maze.

Antes de iniciar los experimentos, se limpió cada una de las zonas del Plus-Maze con una solución de jabón y agua, se secó, y posteriormente se lavó con una solución de benzal diluido para después enjuagarse y secarse. Este procedimiento se repite entre cada animal experimentado y es con la finalidad de eliminar rastros que puedan indicar "peligro" a los siguientes animales por experimentar.

Una vez administrados los animales, se colocaron por 5 min., en una caja de arena como sugiere Pellow <sup>(1985)</sup> pasado este tiempo, inmediatamente, se colocaron en el cuadro central del Plus-maze con la cabeza dirigida hacia uno de los brazos abiertos. Se registró durante 5 min., observando y cuantificando la entrada y salida tanto a las zonas abiertas como a las cerradas, también, se registró el tiempo que los animales permanecían en cada una de las zonas, (contando el cuadro central como zona abierta).

Todos los experimentos realizados se llevaron a cabo con el mismo procedimiento y bajo las mismas condiciones.



Parámetros a evaluar en el Plus-maze.

➊ Número total de entradas, el cual se obtiene de la suma de las entradas a la zona cerrada y las entradas a la zona abierta.
➋ Porcentaje de entradas a cada zona: es la razón obtenida de las entradas ya sea a la zona abierta o a la zona cerrada entre el promedio del total de entradas y multiplicado por 100.
➌ Porcentaje de tiempo de permanencia en cada zona el cual es la razón del tiempo de permanencia en la zona abierta o cerrada entre el total del tiempo de prueba que es de 5 min. y multiplicado por 100.
➍ Para determinar el efecto ansiolítico se toma en cuenta el porcentaje de permanencia en la zona o brazo abiertos, así como el número de entradas a la zona abierta, ya que este parámetro nos refleja el grado de ansiedad presente en el animal.

Los resultados fueron analizados con el programa estadístico SPSS Versión 10.0 con la prueba estadística de ANOVA y para los valores con significancia de 0.05 ( $\alpha$ ) se aplicó la prueba de DUNNETT <sup>(9)</sup>.

**HISTOLOGÍA**

Después, de someterlos al Plus-Maze, los animales se sacrificaron por dislocación cervical y se perfundieron con una solución de formaldehído al 10% para después extraer el cerebro y colocarlo en una solución de formaldehído al 10% por un



mínimo de 1 semana antes de hacer los cortes histológicos. Los cortes se realizó por el método de congelación con carbógeno y con un microtomo. El espesor de los cortes fue de 50 $\mu$  y se realizó con la finalidad de corroborar el sitio de colocación de la cánula.



## 7.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La verificación de la cánula, se llevó a cabo mediante la evaluación de los cortes histológicos, tomando únicamente en cuenta los resultados en los cuales la cánula se localizó en el ventrículo (Fig.9).

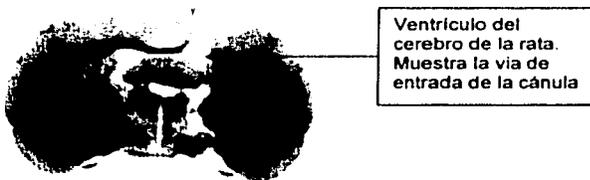


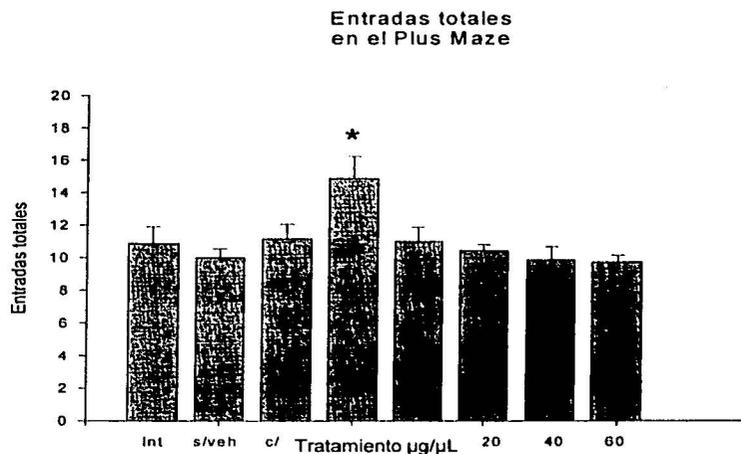
Fig.9: Ejemplo de un Corte histológico del cerebro de rata; utilizando el método de congelación con carbógeno y con un microtomo, con un espesor de  $50\mu$  en los cuales se corrobora el sitio de colocación de la cánula.

Los resultados obtenidos de los parámetros evaluados en el Plus-Maze, muestran el comportamiento de los grupos tanto controles como administrados con diferentes concentraciones de MEL (Gráfica 1, 2 y 3).

En lo que se refiere a los grupos control, los resultados muestran que el comportamiento antes y después de la cirugía no cambia ya que los valores son semejantes y no hay diferencia significativa estadísticamente hablando, al comparar el grupo de animales con la administración del vehículo (PEG 35%), tampoco muestran cambios significativos con respecto al animal íntegro en los tres parámetros evaluados (Gráficas 1, 2 y 3). Estos resultados nos indican que ni la operación realizada para insertar la cánula, ni la administración de vehículo, alteran el comportamiento de los animales en el Plus-Maze, siendo las condiciones experimentales utilizadas, ideales para determinar el efecto ansiolítico de la MEL.



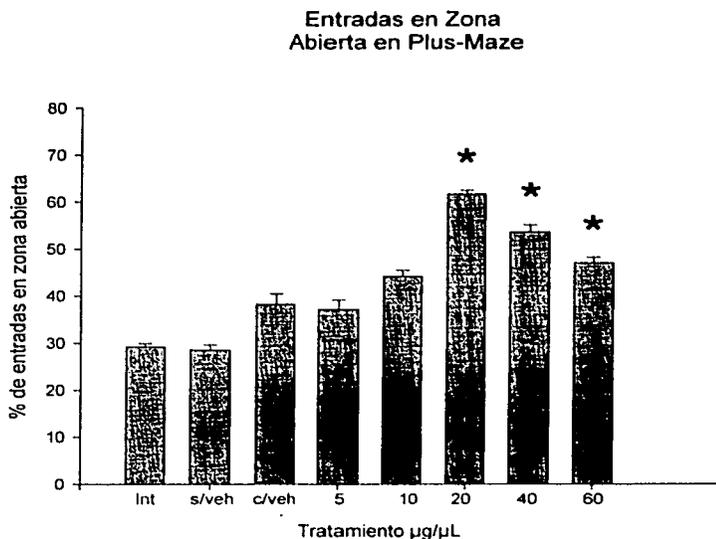
Al analizar los resultados obtenidos cuando se administran diferentes concentraciones de MEL, se observa un aumento en las entradas solo a la concentración de 5mg/mL (que corresponde a la dosis de 0.018  $\mu\text{g/g}$ ), mientras que las concentraciones mayores, muestran un valor semejante al de los grupos control (Gráfica 1). Estos resultados indican que la actividad locomotriz no esta siendo alterada como lo reportaron Dawson y Tricklebank <sup>(11)</sup>, quienes han sugerido que el efecto ansiolítico puede ser confundido con un incremento de la actividad locomotriz; por otro lado los resultados muestran una concordancia con experimentos anteriores, en los cuales se observó que el número de entradas totales no aumenta al administrar MEL a una concentración de 10 mg/mL <sup>(47)</sup> y que puede ser tomado como un indicativo de la actividad locomotriz de los animales en el Plus-Maze.



Gráfica 1. Número de entradas totales en el Plus-Maze (promedio  $\pm$  SEM) al administrar diferentes concentraciones de MEL ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ). \* es significativo a  $\alpha=0.05$ .



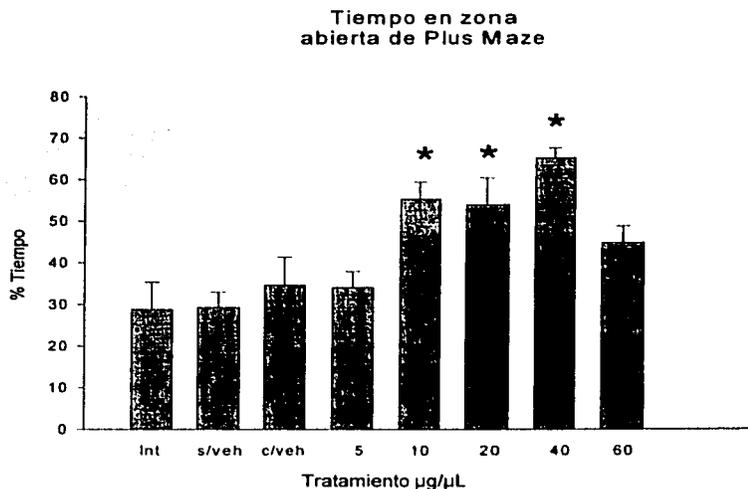
En lo que respecta al porcentaje de entrada en la zona abierta del Plus-Maze, los resultados muestran una dependencia entre la concentración administrada de MEL y la respuesta observada, siendo el máximo valor a la concentración de 20 mg/mL( que corresponde a la dosis de 0.07  $\mu\text{g/g}$ ), y cayendo después de esta concentración. El aumento en el porcentaje de entradas en la zona abierta comienza desde la concentración de 10 mg/mL, sin embargo, es hasta los 20 mg/mL cuando los valores son estadísticamente significativos, la concentración de 5 mg/mL, no presenta cambios visibles en este parámetro (Gráfica 2).



Gráfica 2. Porcentaje de Entradas en Zona Abierta en el Plus- Maze (promedio  $\pm$  SEM). \*significativo a un nivel de  $\alpha=0.05$ . Los tratamientos se encuentran expresados en concentración cuyas unidades son  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ .



En la gráfica 3, lo que observamos es que el aumento en el tiempo de permanencia de la zona abierta es estadísticamente significativo en los grupos con administraciones de 20, 40 y 60 mg/mL, lo que nos indica que su comportamiento está siendo modificado y que las ratas presentan una mayor desinhibición a los espacios abiertos lo que traducimos como una menor ansiedad. Estos datos concuerdan con los observados en las entradas a la zona abierta en el Plus-Maze, en donde la respuesta después de alcanzar un máximo, decrece, con respecto al porcentaje de entradas, la respuesta decrece después de la concentración de 20 mg/mL (que corresponden a la dosis de 0.07  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) (Gráfica 2), mientras que en el porcentaje de tiempo esto sucede después de la concentración de 40 mg/mL( que corresponde a la dosis de 0.145  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) (Gráfica 3).



Gráfica 3. Porcentaje de tiempo en Zona Abierta en el Plus-Maze. (promedio  $\pm$  SEM). \*significativo a un nivel de  $\alpha=0.05$



La MEL ha sido reportada como anticonvulsivo, sedante y ansiolítico por mencionar algunos de sus efectos farmacológicos (18, 46, 47).

El principal mecanismo de acción para estos efectos farmacológicos de la melatonina, es sobre receptores GABA, ya que el efecto ansiolítico es revertido con compuestos como el flumazenil, un antagonista de BZP (1, 19).

En el hipotálamo, se han encontrado receptores GABA y los resultados obtenidos indican que esta zona cerebral que forma parte del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal, puede estar involucrada en el proceso ansiolítico producido por la MEL (1).

En el caso de las BZP, una familia de fármacos utilizados en el tratamiento de la ansiedad y que presentan propiedades anticonvulsivas, relajantes musculares e hipnóticas, tienen un efecto mediante receptores GABA-A y probablemente es mediante estos receptores que pueden mediar la acción del HPA (34).

Los resultados muestran que se tiene un efecto ansiolítico máximo a 40 µg/mL esto puede ser debido a que a esta concentración se están saturando los receptores a GABA que es el mecanismo responsable del efecto ansiolítico propuesto por algunos autores como Golombek 1993 y Arvat *et al*, 2002. Por otro lado, a ese nivel también se ha descubierto la presencia de receptores a MEL, lo cual indica que falta realizar más experimentos que demuestren la relación de estos receptores con el efecto ansiolítico.

Un estudio más fino con dosis intermedias nos ayudaría a verificar si existe una meseta o si presenta el mismo comportamiento, que ha sido observado en compuestos ansiolíticos como el DZP (62), este tipo de respuesta ha sido llamada Curva dosis



Respuesta en forma de **U** invertida la cual muestra un comportamiento que es usual para los ansiolíticos (31, 55, 56, 57 58).

Al observar el comportamiento de la respuesta al aumento de la concentración del ansiolítico en la gráfica 2 podemos notar que en las primeras concentraciones (5, 10 mg/mL) aumenta la respuesta hasta un máximo (20 mg/mL) y posteriormente se observa la caída de la respuesta, hecho que ha sido observado cuando se saturan los receptores, cosa que puede estar sucediendo con la MEL y el efecto ansiolítico cuando es administrada IcVtr.



## 8.0 CONCLUSIONES

- ◆ La administración Icvtr de MEL produce ansiólisis.
- ◆ Los resultados obtenidos demuestran que existe una dependencia entre la concentración de MEL administrada y el efecto ansiolítico.
- ◆ Se esperaba una respuesta que demostrará la saturación de receptores al aumentar las concentraciones de MEL administradas, hecho que no se observa, sin embargo el efecto ansiolítico observado es de tipo "U" invertida que ha sido reportado en varios experimentos para evaluar compuestos con propiedades ansiolíticas.



## 9.0 BIBLIOGRAFIA

1. Arendt Josephine; *Safety of Melatonin in Long-Term Use*; J. of Biol. Rhyth.; Vol. 12(6); 673-681; (1997).
2. Arvat E, Giordano R, Grottoli S, Ghigo E.; *Benzodiazepines and Anterior Pituitary Function*. J.Endocrinol Invest. Vol. 25(8):735-747 (2002).
3. Brainard G., Hanifin J., Rollag M., Greeson J. And Cols.; *Human Melatonin Regulation is not Mediated by the three Cone Photopic Visual System.*; J. of clin. Endocrinol. and Metab. 86(1): 433-436 (Jan 2001).
4. Braunwald, Isselbacher, Wilson, Martin, Fauci. cap. *Ansiedad y Trastornos de pánico*; Pág.584-586. *fármacos Psicotrópicos*; Pág. 587-590 PRINCIPIOS DE MEDICINA INTERNA 11ª. Edición Manual Moderno. Nueva York, México 1990.
5. Cagnacci A, Elliott JA, Yen S.S.; *Melatonin: A Major Regulator Of The Circadian Rhythm Of Core Temperature In Humans.*; J Clin Endocrinol Metab. 75:447-452(1992).
6. Cagnacci A, Kräuchi K, Wirz-Justice A, Volpe A.; *Homeostatic versus circadian Effects of Melatonin on Core Body Temperature in Humans*; J. of Biol. Rhyth.; Vol. 12(6); 509-517; (1997).
7. Cardinalli D.P.; *Melatonin: a mamalian pineal hormone*. Endocrine Rev. Vol. 2; 327-343;(1981).
8. Cardinalli,D.F., Lowenstein,P.R., González S.; *Functional Links Between Benzodiazepine And GABA Receptors And Pineal Activity, GABA And Endocrine Function*. Raven Press, NY:155-164(1986).
9. Craviotto J, Castilla Serra; *ESTADISTICA SIMPLIFICADA PARA LA INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD.*; 1ª edición, México, D.F., 1991, Editorial Trillas.
10. Davis F.C.; *Melatonin: Role in Development*; Journal of Biological Rhythms; Vol 12(6); 498-508; (1997).
11. Dawson G R., and Tricklebank MD.; *Use Of The Elevated Plus Maze In The Search For Novel Anxiolytic Agents*. Trends in Pharmacol Sciences. 16:33-36 (Feb 1995).
12. Den Boer JA, Westenberg HG Carman JS, Post RM, Buswell R, Goodwin FK ; *Negative Effects Of Melatonin On Depression*. Am J Psychiatry.;133(10):1181-6(1976 Oct).
13. Dr. Philip Solomon. *Manual de psiquiatría*. 3a. Edición. Manual Moderno. 1976.
14. DSM III, *Manual de Psiquiatría*. Diagnostic and Statistical Manual 3ª. Edición.



15. Dubocovich ML, Masana MI, Benloucif S.; *Molecular Pharmacology And Function Of Melatonin Receptor Subtypes*. Adv. Exp. Med. Biol.; 460: 181-90 (1999) Review.
16. Dubocovich ML.; *Melatonin Receptors: Are There Multiple Subtypes?*. Trends in Pharmacol Sciences.; Vol.16:50-56 (Feb 1995).
17. Ganong William.; *Cap. Funciones endocrinas*. Pág. 391-396. MANUAL DE FISIOLÓGÍA MÉDICA. 3a. Edición Manual Moderno, S.A. México 1971.
18. Golombek DA, Martini M, Cardinali D.P.; *Behavioral, Neuroendocrine, And Biochemical Effects Of 5-Hydroxytryptophan Administration In Panic Disorder*. Psychiatry Res. 1990 Mar;31(3):267-78. (1993) PMID: 2139731
19. Golombek DA., Pévet P. And Cardinali D.P.; *Melatonin Effects On Behavior: Possible Mediation By The Central Gabaergic System*. Neuroscience and Biobeh Rev. 20(3):403-412. (1992).
20. Gonzalez L. E. And File Sandra E.; *A Five Minute Experience in the Elevated Plus-Maze Alters the State of the Benzodiazepine Receptor in the Dorsal Raphe Nucleus*.; The J of Neuroscience; Vol. 17(4): 1505-1511; (1997).
21. Goodman, A.G.; Rall, T.W.; Nies, A.\_S. Y Taylor, P. Cap. 18 Sección 3ª. Psicofarmacología: Los Fármacos y el tratamiento de las Enfermedades Psiquiátricas; LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA.8ª. Edición, Ed. Panamericana, México, 1991.
22. Goth, A. Y Vesell, E. Sección 3ª. Psicofarmacología; FARMACOLOGÍA MÉDICA PRINCIPIOS Y CONCEPTOS; 13ª. Edición. Ed. Mosby Barcelona, 1993.
23. Guardiola-Lemaitre B, Lenegre A, Porsolt RD; *Melatonin As An Anxiolytic In Rats: Time Dependence And Interaction With The Central Gabaergic System*. Eur J Pharmacol. Jun 24;237(2-3):231-6(1993).
24. Guardiola-Lemaitre; *Toxicology of Melatonin*; J of Biol Rhyth; Vol.12(6); 697-706; (1997).
25. Haiping Hao and Rivkees Scott; *Melatonin Does Not Shift Circadian Phase In Baboons*. J of Clin Endocrinol and Metabol. 85(10) : 3618-3622 (2000).
26. Haley T.H. and McCormick W.G.; *Pharmacological Effects Produced By Intracerebral Injection Of Drugs In The Conscious Mouse*; Brit. J. Pharmacol; Vol 12(12): 12-15 (1957).
27. Hogg, A.A; *Review Of The Validity And Variability Of The Elevated Plus-Maze As An Animal Model Of Anxiety*. Psychopharmacol. Biochem. Behav. 54(1):21-30(1996).
28. Holmes A, Parmigiani S, Ferrari PF, Palanza P, Rodgers RJ.; *Behavioral Profile Of Wild Mice In The Elevated Plus-Maze Test For Anxiety*. Physiol Behav.;71(5):509-16(2000 Dec).
29. Howard H. Goldman.; *Cáp. Psicopatología: Diagnostico Psiquiátrico.*; Psiquiatria General, Manual Moderno 4ª. Edición. Bogota 1996.



30. Illnerova H and Sumova A; *Photic Entrainment of the Mammalian Rhythm in Melatonin Production*; J of Biol Rhyth; Vol.12(6): 547-555;(1997).
31. Jones G H, Schneider C, Scheider H H, Seidler J, Cole B J; *Comparason of several benzodiazepine receptor ligands in two models of anxiolytic activity in the mouse: an analyses based on fractional receptor occupacies*; Psychopharmacology; Vol 114: 191-199 (1994)
32. Jones N, King S.M; *Influence of circadian phase and test illumination on pre-clinical models of anxiety*. Physiol Behav.;72(1-2):99-106(2001 Jan).
33. Kiernan A.John.; *Combined Effects Of Diazepam And Melatonin In Two Tests For Anxiolytic Activity In The Mouse.*; Pharmacol Biochem Behav.;41(2):405-8(1992 Feb).
34. Kralic J, O'Buckley T, Khisti R, hodge C.; *GABA<sub>A</sub> Receptor Alpha-1 Subunit Deletion Alters Receptor Subtype Assembly, Pharmacological and Behavioral Responses To Benzodiazepines and Zolpidem*. Neuropharmacology. Vol43(4):685-687(2002).
35. Lakin P.L. and Thomas; *Commentary: Effects of Photic and Nonhotic Stimuli on Melatonin Secretion*; J of Biol Rhyth; Vol. 12(6): 575-578; (1997).
36. Lerner, A.B.;Case, J.D.; Takahashi, Y.;; Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. J.Am.Chem. Soc. Vol 80; 2387-(1958)
37. Lerner, A.F. and Case, J.D.; Melatonin. Fed. Prod. Vol. 19: 590-593(1960).
38. Litter, M.; *Acción Farmacológica general de las drogas* cap3. pg 60-63) MECANISMO DE LA ACCIÓN DE LOS FÁRMACOS. Compendio de Farmacología.7ª. Edición; Editorial El Ateneo; Argentina 1988.
39. Matinet L. at cols.; *Entrainment of Circadian Rhythms by S-20098, a Melatonin Agonist, is Dose and Plasma Concentration Dependent*. Pharmacol. Bioch. Behav. Vol 4: 713-718 (1996).
40. Mendelson Wallace B.; *Efficacy of Melatonin as a Hypnotic Agent*; J of Biol Rhyth,.;Vol.12(6); 651-656;(1997).
41. Mishima K, Satoh K, Shimizu T, Hishikawa Y.; *Hypnotic and Hypothermic Action of Daytime- Administered Melatonin*. Psychopharmacology. 133: 168-171(1997).
42. Mishima K., Okawa M., Shimizu T., Hishikawa Y.; *Diminished Melatonin Secretion in the Elderly Caused by Insufficient Enviromental Illumination*. J of Clin Endocrinol and Metabol. 86(1): 129-134 (Jan 2001).
43. Moreno J., Belmont A., Heinza G., López G., Gómez A., Rosado A., Valverde C... *Cronofarmacología de la melatonina en un grupo de sujetos normales de la ciudad de México*. Salud Mental 20: 8-12 (Oct 1997).
44. Murch S;J, Simmons C.B.; *Melatonin in Feverfew and Other Medicinal Plants*. The Lancet. Vol.(350):1598-1599 (1997).



45. Murray L.Barr, Kiernan A.John. Cap. Desarrollo, composición, y evolución del sistema Nervioso Pág. 3-13. Anatomía Regional del sistema nervioso central (di encéfalo) Pág. 183-211. EL SISTEMA NERVIOSO HUMANO (Un punto de vista anatómico). 5ª. Edición. editorial Harla. México 1994..
46. Naranjo EB., Ortiz A., Hernandez E., Mendoza V., Escobar A.; *Anxiolytic-like Actions of Melatonin, 5-Metoxytryptophol, 5-Hydroxytryptophol and Benzodiazepines on a Conflict Procedure*. Prog. Neuro-Psychopharmacol and Biol. Psychiat. 24: 117-129 (2000).
47. Ortiz A. *Caracterización de las acciones ansiolíticas producidas por la administración intracerebro ventricular de Melatonina, Clorodiazepoxido y Buspidrona en ratas en el modelo de Plus-Maze*. Tesis UNAM (1998).
48. Oxenkrug GF, McIntyre IM.; *Stress-Induced Synthesis Of Melatonin: Possible Involvement of the Endogenous Monoamine Oxidase Inhibitor (Tribulin)*. Life Sci. 1985 Nov 4;37(18):1743-6.
49. Pellegrino L.J, Pellegrino S.A; A STEREOTAXIC ATLAS OF THE RAT BRAIN. 2ª. Edición, New York 1981, Editorial Plenum Press.
50. Pellow, S.;Chopin, P.;File.SE. and Briley, M.; *Validation Of Open: Close Arm Entries in an Elevated Plus-Maze as a Measure of Anxiety in the Rat*. J. of Neuro. Met. (14): 149-167 (1985).
51. Pierrefiche G, Zerbib R, Laborit H.; *Anxiolytic Activity of Melatonin in Mice: Involvement Of Benzodiazepine Receptors*. Res Commun Chem Pathol Pharmacol. 1993 Nov;82(2):131-42.
52. Redman J, Armstrong S, Mg Kt.; *Free-Running Activity Rhythms In The Rat: Entrainment By Melatonin*. Science. 219:1089-1091 (1983).
53. Redman J.R.; *Circadian Entrainment and Phase Shifting in Mammals with Melatonin*; J of Biol Rhyth; Vol.12(6); 581-587; (1997).
54. Reppert Steven M; *Melatonin Receptors: Molecular Biology of a New Family of G Protein-Coupled Receptors*; J of Biol Rhyth.; Vol. 12(6); 528-531; (1997).
55. Rex A, Marsden and Fink H; *Effect of Diazepam on Cortical 5-HT Release and Behaviour in the Guinea-Pig on Exposure to the Elevated Plus Maze*; Psychopharmacology; Vol 110: 490-496 (1993).
56. Rex A, Morgenstern E, Fink H.; *Anxiolytic-Like Effects of Kava-Kava in the Elevated Plus Maze Test a Comparasion with Diazepam*. Prog.Neu-Psychopharmacol and Biol. Psych. Vol.(26)5: 855-861(2002).
57. Rex A, Stephens D:N, and Fink H; "Anxiolytic" Action of diazepam and Abecarnil in a Modified Open Field Test.; pharmacol. Bioch. And Behav.;Vol. 53(4): 1005-1011 (1996).
58. Rex A, Voigt J.P, Fink H.; *Pharmacological evaluation of a Modified Open-Field Test Sensitive to Anxiolytic Drug*; pharmacol. Bioch. And Behav.;Vol. 59(3); 677-683; (1998).



59. Ribeiro R L, De Lima T.; *Participation of GABA<sub>A</sub> Receptors in the Modulation of Experimental Anxiety by Tachykinin Agonists and Antagonists in Mice*; Prog.Neuropsychopharmacol and Biol. Psych.; Vol 26:861-869(2002).
60. Rodgers RJ R, Cole JC J, Cobain MR M, Daly P P, Doran PJ P, Eells JR J, Wallis P P.; *Anxiogenic-Like Effects of Fluprazine and Eltoprazine in the Mouse Elevated Plus-Maze: Profile Comparisons with 8-OH-DPAT, CGS 12066B, TFMPP And Mcpp*. Behav Pharmacol.; Vol. 3(6):621-634(1992 Dec).
61. Rodgers RJ R, Cole JC J, Cobain MR M, Daly P P, Doran PJ P, Eells JR J, Wallis P.P.; *Anxiogenic-Like Effects Of Fluprazine And Eltoprazine In The Mouse Elevated Plus-Maze: Profile Comparisons with 8-OH-DPAT, CGS 12066B, TFMPP and Mcpp*. Behav Pharmacol.;3(6):621-634(1992 Dec).
62. Ruarte MB, Alvarez E.O.; *Behavioral Profiles Displayed By Rats In An Elevated Asymmetric Plus-Maze: Effects Of Diazepam.*; Behav Pharmacol; Vol. (32)1:99-106 (1999).
63. Sack RL, Lewy AJ, Erb DL, Vollmer WM, Singer CM.; *Human Melatonin Production Decreases with Age*. J pineal res. 3:379-388(1986).
64. Salti R., Galluzzi F., Bindi G., Perfetto F., Tarquini R., Halberg F., Cornelissen G., *Nocturnal Melatonin Patterns in Children*. J Clin Endocrinol Metab 85(6): 2137-2144 (Jun 2000).
65. Sanger, D.J.; *Animals models of anxiety and the screening and development of novel anxiolytic drugs.*; Neuromethods; Vol. 19: Animal models in psychiatry, II, 1991.
66. Shanahan T.L., Zeitzer M.J., and Czeisler Ch. A.; *Resetting the Melatonin Rhythm with light in humans*; J of biol Rhyth, Vol. 12(6); 556-567; (1997).
67. Sloan EP, Flint AJ, Reinish L, Shapiro CM *Circadian rhythms and psychiatric disorders in the elderly*. J Geriatr Psychiatry Neurol. 1996 Oct;9(4):164-70. Review. PMID: 8970008
68. Spadoni G, Mor M, tarzia G.; *Structure-Affinity Relationships Of Indole- Based Melatonin Analogs*. Biol. Signals Recept.; Vol. 8 (1-2):6-14(1999 Jan-Apr)Review.
69. Stephen G. Waxman; *NEUROANATOMÍA CORRELATIVA*; Manual moderno 22ª. Edición Bogota. 1997.
70. Sugden D.; *Melatonin Biosynthesis in the Mammalian Pineal Gland*; Reviews; Vol.5:1100-1125 (1989).
71. The IUPHAR Compendium of Receptor Characterization and Classification tomo II B.P. Roques and F. Noble publicado por IUPHAR media 68 half Moon lane London, 1998.
72. Ting K:N, at al.; *Studies on the vasoconstrictor action of melatonin and putative melatonin receptors ligands in the tail artery of juvenile wistar rats.*; J of Pharmacology ; Vol. (122):1299-1306 (1997).



73. Treit D, Degroot A, Kashluba S, Bartoszyk G.D; *Systemic EMD 68843 injections reduce anxiety in the shock-probe, but not the plus-maze test.*; Eur J Pharmacol. Mar 2;414(2-3):245-248(2001).
74. Treit D, Menard J and Royan C.; *Anxiogenic Stimuli in the Elevated Plus-Maze; pharmacol. Bioch. And Behav.*;Vol.44: 463-469; (1993).
75. Vincent M. and Natesan A.K; *Time and Time Again: The phylogeny of melatonin as a transducer of Biological time*; J of Biol Rhyth, Vol. 12(6): 489-497; (1997).
76. William S. Appleton & John M. Davis.; *Cáp. Ansiolíticos: apoyo a la psicoterapia.* Pág. 143 - 166. PSICOFARMACOLOGÍA CLÍNICA PRÁCTICA ; 1ª. Edición Barcelona 1985. Salvat editores.
77. Witt-Enderby PA, Li P.K; *Melatonin Receptors And Ligands Vita; Horm.*; Vol. 58:321-54(2000). Review.



## Anexo 1: Historia del estudio de la ansiedad

AÑO	INVESTIGADOR	HALLAZGO
Siglo XVII	Europa	Clasificación de trastornos
Siglo XVII	Hipócrates	Quien define las manifestaciones ansiosas como Histeria.
1860	Morel	Clasifica Fobias y Neurosis
1868	Beard	Utiliza el término NEURASTENIA definiendo 50 síntomas que los define como síndromes (ansiosos, depresivos, nopsicóticos, fóbicos y obsesivos).
1870	Benedikt	Describe un cuadro ágora fóbico
1871	Westphal Da Costa	Describe 3 casos de agorafobia En los tiempos de guerra describe el síndrome de corazón irritable.
1892	Oppenheim	Describe la neurosis traumática
1894	Freud	Define la neurosis de ansiedad el cual abarca todas las formas de ansiedad patológica.
1905	Osler	Describe el síndrome de corazón de Soldado
1918	Oppenheimer	Describe la Astenia Neurocirculatorio
1919	Lewis	Describe el Síndrome del esfuerzo
1950	Lopez Ibor	Define la ansiedad endógena
1952	Freud DSM-I (Diagnostic Statistical Manual Mental Disorders)	Da la clasificación de Neurosis de Ansiedad: a)Neurosis de Ansiedad, b)Histeria de Ansiedad Clasifica a los ansiosos en : a)Reacción de Ansiedad, b)Reacción Fóbica.



1969	Marks	Clasifica los miedos de los adultos(patológicos)
1979	Torgersen	Clasifica en grupos de temores por medio de análisis factorial
1980	DSM-III	Clasifica los trastornos de ansiedad en : Crisis de Angustia, Trastorno por ansiedad generalizada, Agorafobia con crisis de angustia, Agorafobia sin crisis de angustia, trastorno por ansiedad atípica, Fobia social, Fobia simple, trastorno obsesivo compulsivo, Trastorno por estrés postraumático agudo y crónico.
1984	Breier	Diferencias entre la ansiedad anticipatoria y su relación con la agorafobia.
1996	Gallardo	Estudio para caracterizar el perfil farmacológico de fármacos ansiolíticos.
1998	Osornio	Caracterización de las acciones ansiolíticas producidas por la administración intracerebroventricular de MEL, CDP y BUS en raytas en el modelo de Plus-Maze.



**Anexo 2: Teorías de la génesis de la ansiedad**

Tipo de Teoría	Fundamento
<b>GENÉTICA</b>	Issac Marks (1986), menciona que los organismo se han engendrado de manera selectiva con diferencias genéticas para la conducta defensiva. Los trastornos por ansiedad son más comunes entre los parientes y sobre todo en mujeres, la cual menciona que dos organismos genéticamente ligados(gemelos), son más propensos a desarrollar cualquier trastorno de ansiedad, si hubo un estímulo familiar anterior; tiene mayor incidencia en la mujeres.
<b>PSICODINAMICA</b>	La ansiedad se ve como una emoción del yo (parte del aparato mental que equilibra los impulsos y demandas de nuestro ego infantil, austeridad y controles punitivos de nuestro superyo paternal y la realidad externa) por lo que se habla de un conflicto psicológico oculto.
<b>APRENDIDA</b>	Es una respuesta aprendida a algún estímulo nocivo, por lo que la persona los evita, ya que aprende cual es la situación que la provocan.
<b>BIOQUÍMICA</b>	El funcionamiento fisiológico se ve afectado en la ansiedad, ya que aumenta la frecuencia cardiaca, las concentraciones de lactato sanguíneo son mas elevadas, así como tienen un mayor déficit de oxígeno durante el ejercicio moderado, por lo cual a los pacientes los hace más sensibles a ciertos fármacos que aumentan la actividad del locus ceruleus(el cual suministra cerca del 70% de las neuronas de NA en el SNC).



**ANEXO 3: Tipos de modelos Experimentales que son empleados para el estudio de la Ansiedad.**

<b>MODELO EXPERIMENTAL</b>	<b>FUNDAMENTO</b>	<b>CONDICIONES</b>	<b>NOTA JUSTIFICACION</b>
Conflicto de Geller-Scifter y e Vogel	Placa con comedero de metal en uno de sus lados un comedero automático con una placa.	Las ratas deberán estar privadas de alimento por 12, 18, 24 o 48 hr. (7,16,35,36,49,54,73,74,93,94)	La rata al sentir apetito presionará la placa para obtener alimento recibiendo también una descarga eléctrica, lo que creará en el sujeto un conflicto.
Respuesta emocional condicionada	Caja que presenta en uno de sus lados un foco, y en el fondo una placa de metal.	Las ratas no requieren privación de alimento.	La rata es sometida a choque eléctrico, precedido de una señal (luz) en dif. Periodos (12,18, 24 o 48 hr), evaluado la ansiedad por su conducta y comportamiento alterado.
Sobresalto potenciado	Caja que presenta en uno de sus extremos un foco y una bocina	Las ratas no requieren privación de alimento.	Al igual que el anterior se busca que el individuo asocie un estímulo a un castigo comprobando su estado de ansiedad con cambio en la conducta.
Ocultamiento defensivo condicionado	Fue diseñado para imitar una forma de aprendizaje para la sobrevivencia.(choque eléctricos con agujón cubierto por material de cama del piso)	Las ratas no requieren privación de alimento.	Las ratas presentaron niveles significativos de ocultamiento al estímulo aversivo por un choque eléctrico.
Acicalamiento inducido por novedad al medio	Cambio de caja o lugar de vivienda ,	Los ratones se acicalan o limpian normalmente y este acicalamiento se ve incrementado al ser trasladados a un ambiente desconocido	El ambiente desconocido produce acicalamiento en ratones un mayor número de veces al normal lo cual indica ansiedad inducido por el incremento en el contenido ventricular de Acth la cual es disminuida en presencia de fármacos ansiolíticos.
Escape a estímulos estresantes en	Los monos se retiran al fondo de su caja emitiendo una serie	Los pequeños monos se enfrentan a una situación	La generación de posturas incluye mirada fija al observador, olfateo de las



monos ( <u>callithrix jacchus</u> )	de movimientos del cuerpo y expresiones corporales que se han etiquetado como posturas	potencialmente amenazante como el que un observador humano se acerque a la caja.	marcas de la superficie de la caja y arqueamiento hacia atrás acompañado de piloerección.
Conducta exploradora	Igual que la de acicalamiento por novedad del medio.	Se cambia al ratón de su caja hogar a una nueva, lo que provocará en él, un estado de ansiedad medible en las veces en las que explora su nuevo hogar.	Al administrar los fármacos ansiolíticos esta respuesta de exploración se ve disminuida o nulificada.
El laberinto	Laberinto en cruz, cuyo piso esta recubierto por una placa de metal que al paso del animal proporcionara una pequeña descarga, hasta que llegue al premio, en un extremo agua salina y en otro el fármaco ansiolítico.	A la rata se le da un previo entrenamiento para conocer el laberinto y después proporcionan las descargas y los premios correspondientes	Decidirá por lo tanto cual de los premios le causara un mayor bienestar
Prueba de las cuatro placas	Se valora la conducta exploradora	La rata es colocada sobre 4 placas de metal por las cuales pasa una corriente eléctrica.	Al suministrar el choque se modifica su conducta.
Exploración de áreas altamente iluminadas	Se basa en la tendencia natural de los roedores a evitar explorar áreas brillantemente iluminadas.	Cámara que consta de un lugar iluminado y otro oscuro en la cual se registra el numero de transiciones y la actividad total.	Solo se coloca al roedor en una situación de conflicto.
Ocultamiento de canicas	La cualidad que los roedores tienen de ocultar objetos es utilizada en este método.	Después del nado forzado se coloca la rata en su cama con canicas de vidrio.	Por naturaleza los roedores ocultan con aserrín de su cama objetos extraños.
Conducta de atesoramiento en ratas	Hipótesis de Miller y Vied dice que el atesoramiento o almacenamiento de comida, les sirve a las ratas para asegurarse de no ser atacadas mientras comen, por	Las ratas no requieren privación de alimento.	Por naturaleza las ratas almacenan alimento, que les sirve para asegurarse de no ser atacadas mientras comen.



	lo que puede ser respuesta motivada por la ansiedad.		
Conducta social en ratas	Aprovecha la naturaleza de los roedores para evitar la luz y los alrededores no familiares .	Se colocan pares de ratas en arena experimental y se mide el tiempo que emplean en la actividad de interacción social como : husmear, mordisquear y acicalarse.	Analogía social en la vida humana, aun cuando existen varias complicaciones ya que es un efecto estimulante no específico.
Hipertermia inducida por estrés	El ser separados los roedores del grupo dentro de la misma caja produce un incremento de la temperatura.	Es un método altamente específico y no requiere de pretratamiento farmacológico o entrenamiento previo.	
Prueba de nado forzado	Valioso por su respuesta de movilidad mínima o inmovilidad.	Recipiente que con agua, con una profundidad de 15c.m, a una temperatura de 25°C.	



**ANEXO 4: Tabla de Equivalencias de Concentraciones y Dosis administradas.**

<b>CONCENTRACIÓN (<math>\mu\text{g}/\mu\text{L}</math>)</b>	<b>DOSIS ( <math>\mu\text{g}/\text{g}</math>) Promedio (<math>\bar{X}</math>) <math>\pm</math></b>
5	0.018 $\pm$ 0.002
10	0.035 $\pm$ 0.005
20	0.07 $\pm$ 0.01
40	0.145 $\pm$ 0.015
60	0.22 $\pm$ 0.02

Nota: La dosis se describe como promedio, ya que el peso de las ratas en experimentación varió entre 250g y 300g.



## FE DE ERRATAS

- ◆ En la página 33, dice: \*Nota: Revisar dosis correspondientes en Anexo No.,  
Debe decir: \*Nota: Las dosis correspondientes se encuentran en el Anexo No. 4.
- ◆ En la gráfica No.1 de la página 43, faltan los valores de 5 y 10 µg/µL.
- ◆ En el Anexo No.1 de la página 56, en la última fila, en la columna del Investigador dice:  
Osornio, debe decir Ortiz-Osornio.
- ◆ En el Anexo No. 1 de la página 56, en la última fila, en la columna del hallazgo, dice:  
Caracterización de las acciones ansiolíticas producidas por la administración intracerebroventricular de MEL, CDP y BUS en raytas en el modelo de Plus-Maze.  
Debe decir: Caracterización de las acciones ansiolíticas producidas por la administración intracerebroventricular de MEL, CDP y BUS en ratas en el modelo de Plus-Maze.