



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ANSIOLÍTICOS Y SOBRE LA
COORDINACIÓN MOTORA EN RATAS Y RATONES,
PRODUCIDOS POR EL DIAZEPAM, MELATONINA Y
BUSPIRONA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

MIRZA

PINEDA

CARRILLO



MÉXICO, D. F., EXAMENES PROFESIONALES 2005
FACULTAD DE QUÍMICA

m. 347025



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Mirza Pineda Carrillo

FECHA: 18 AGOSTO 2005

FIRMA: 

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: ELIA BROSLA NARANJO RODRÍGUEZ

VOCAL: ATONATIU EDMUNDO GÓMEZ MARTÍNEZ

SECRETARIO: MARIA EVA GONZÁLEZ TRUJANO

SUPLENTE 1: RUTH BUSTAMANTE GARCÍA

SUPLENTE 2: MARIA ELENA SÁNCHEZ MENDOZA

LA PRESENTE TESIS SE DESARROLLÓ EN EL LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA DEL DEPTO. DE FARMACIA EDIF. A 1/E DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNAM.

ASESOR: DRA. ELIA BROSLA NARANJO RODRÍGUEZ


FIRMA

SUSTENTANTE: PINEDA CARRILLO MIRZA


FIRMA

Con la mayor gratitud por todos tus esfuerzos, tus desvelos, tus sacrificios para que yo pudiera terminar mi carrera profesional. Por haberme dado todo y por enseñarme a luchar por lo que se quiere. Gracias por guiar mi camino y estar siempre junto a mí en los momentos difíciles.

Por tu infinita paciencia y el apoyo que me brindaste en todo momento, para culminar una de mis más grandes metas y por permitirme robarte mucho del tiempo en el que merecía estar contigo, así como haber creído en mí. Te amo juntos saldremos adelante.

Aprender y querer avanzar siempre un poco más... podemos hacerlo solos, pero la mayoría de las veces necesitamos de una guía, de alguien que nos enseñe a descubrir y a valorar los secretos de sabiduría que encierra el camino; y usted Dra. Elia Brosla Naranjo Rodríguez lo hizo excelente. Fue un placer haber sido su alumna.

También les agradezco a los miembros del jurado sus observaciones para mejorar este trabajo y el tiempo dedicado.

Se agradece el apoyo a:

1. Programa de Apoyo a Licenciatura (PAL) y al Programa de Apoyo al Posgrado (PAIP) con clave 6390-21.

2. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIT-DGAPA-UNAM) con número de proyecto IN205905.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. GENERALIDADES	3
1. ANSIEDAD	3
1.1. DEFINICIÓN DE ANSIEDAD.	3
1.2. CLASIFICACIÓN DE LOS TRASTORNOS DE ANSIEDAD.	5
1.3. ANATOMÍA DE LA ANSIEDAD	6
1.4 ETIOPATOLOGÍA DE LA ANSIEDAD.....	7
1.5. TEORÍAS DE LA ANSIEDAD	11
1.5. A. Teoría Genética.....	11
1.5. B. Teoría psicodinámica.....	11
1.5. C. Teoría conductista	12
1.5. D. Teoría cognitivista	12
1.5. E. Teoría biológica.....	12
a) Sistema GABAérgico.	13
b) Sistema serotoninérgico.....	14
c) Sistema noradrenérgico	16
d) Sistema adenosinérgico.....	18
e) Sistema dopaminérgico	19
f) Colecistokinina	20
g) Neuropeptido Y	20

1.6. MODELOS EXPERIMENTALES PARA EVALUAR LOS ESTADOS DE ANSIEDAD.	22
1.7. EPIDEMIOLOGÍA	24
1.8. TRATAMIENTO DE LA ANSIEDAD	25
1.8. A. Diazepam	28
1.8. B. Antagonista benzodiazepínico: Flumazenil	30
1.8. C. Buspirona	32
1.8. D. Inhibidor de la recaptura de serotonina: Fluoxetina	33
1.8. E. Glándula Pineal.	35
1.8. F. Melatonina	38
2. RELAJACIÓN MUSCULAR	41
2.1 DEFINICIÓN DE MÚSCULO	41
2.2 CLASIFICACIÓN DE MÚSCULOS	41
2.3 FUNCIÓN MUSCULAR	41
2.4 RELAJACIÓN MUSCULAR	42
2.5 MODELOS EXPERIMENTALES PARA EVALUAR LA COORDINACIÓN MOTORA.	43
III. JUSTIFICACIÓN	45
IV. OBJETIVOS	46
V. HIPÓTESIS	47
VI. METODOLOGÍA	48
VII. RESULTADOS	56
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	69
IX. CONCLUSIONES	71
X. EXPECTATIVAS	72
XI. GLOSARIO	73
XII. BIBLIOGRAFÍA	77

ABREVIATURAS

A = Adrenalina
BUS = Buspirona
BZP = Benzodicepinas
CCK = Colecistokinina
DA = Dopamina
DIAZ= Diazepam
DMS-IV= Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder
ESM = Error estándar de la media
FLU= Flumazenil
FLUO =Fluoxetina
GABA = Ácido Gama Amino Butírico
GP = Glándula Pineal
5-HT= 5-Hidroxitriptamina = Serotonina
ÍNT = Íntegras
i. m. = Intramuscular
i. v. = Intravenosa
i.p. = Intraperitoneal
IFD= Factor inhibidor de las BZP
IMAO= Inhibidor de la monoaminoxidasa
LC = Locus coreleus
LD₅₀=Dosis letal 50
MEL = Melatonina
NA = Noradrenalina
NAérgico =Noradrenérgico
NPY= Neuropeptido Y
OMS= Organización Mundial de la Salud
PEG= Propilenglicol
rpm = Revoluciones por minuto
RMN = Resonancia Magnética Nuclear
SL = Sistema Límbico
SN= Sistema Nervioso
SNA= Sistema Nervioso Autónomo
SNC= Sistema Nervioso Central
SNP= Sistema Nervioso Parasimpático
SNS= Sistema Nervioso Simpático
SSA = Secretaria de Salud
TA = Trastorno de Ansiedad
TAC = Tomografía Axial Computarizada
TAG = Trastorno de Ansiedad Generalizada
TOC = Trastorno Obsesivo Compulsivo
TPET= Trastorno por Estrés Postraumático
VEHIC = Vehículo
V_½ = Vida media

I. INTRODUCCIÓN

Cada individuo tiene vinculada a su idiosincrasia la ansiedad,³¹ debido a que es un mecanismo de adaptación fisiológico ante la vida cotidiana. La ansiedad se define como una respuesta de lucha-huída,¹⁷ caracterizada por intranquilidad, angustia, agitación, sudoración, taquicardia, tensión muscular, etc. Con base a estas características y a estudios epidemiológicos realizados por organismos sanitarios como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (DSM-IV) se reporta que se encuentra entre las 10 causas principales de discapacidad, por lo que se hace necesario el estudio de los mecanismos funcionales de la ansiedad hasta ahora desconocidos, en modelos de experimentación animal basados en situaciones homologables en su naturaleza a las condiciones del ser humano.¹⁵

Inicialmente, los principales fármacos utilizados en el tratamiento de la ansiedad fueron las benzodiazepinas (BZP), por ejemplo el diazepam (DIAZ) fármaco que se continua utilizando como ansiolítico (fármaco que destruye o disminuye la ansiedad),^{8, 31} además, dentro de los efectos del DIAZ tenemos preanestesia, sedación, hipnosis, tranquilizante, ansiolítico, anticonvulsivo y relajante muscular; desafortunadamente estas BZP producen efectos colaterales severos como por ejemplo adicción, por lo que es necesario buscar otros fármacos ansiolíticos que no presenten tales efectos colaterales; este es el caso de la melatonina (MEL)⁵² por su similitud de efectos con las BZP y la buspirona (BUS)²⁹. La MEL es una hormona indólica sintetizada y secretada en la glándula pineal (G. P.), que presenta efectos: ansiolítico, anticonvulsivo, sedante, regulador del ritmo circadiano ("jet lag", ciclo vigilia-sueño), inductor del sueño, reductor de la insulina basal, relajante de músculo liso, cambios del metabolismo y en procesos neurológicos degenerativos³⁴. Mientras que la BUS es una azapirona, con propiedades

ansiolíticas puras, es decir, no posee efectos sedantes, hipnóticos o anticonvulsivantes; sus efectos están relacionados con la 5-HT (serotonina) y su riesgo a producir dependencia es menor en comparación con las BZP⁸. Como las BZP son sustancias depresoras del Sistema Nervioso Central (SNC), sus efectos colaterales o los producidos por una sobredosis se pueden revertir utilizando al Flumazenil (FLU) ya que este es un antagonista competitivo del receptor benzodiacepínico^{8, 43}. Mientras que los efectos colaterales de la 5-HT pueden ser bloqueados por inhibidores selectivos de recaptura de 5-HT como la fluoxetina (FLUO). Con base a lo anterior el objetivo de este trabajo es determinar el efecto ansiolítico y relajante muscular de la MEL, DIAZ y BUS, por administración intraperitoneal (i. p.), utilizando el modelo Rota-Rod para ratas y el modelo del Escondrijo para ratones, así como determinar si la MEL produce efecto ansiolítico y dilucidar el mecanismo de acción por el cual produce estos efectos.



II. GENERALIDADES

1. ANSIEDAD

1.1. DEFINICIÓN DE ANSIEDAD.

La ansiedad es un estado no placentero de respuesta lucha-huida,¹⁷ caracterizado por intranquilidad, angustia, expectoración aprehensiva, agitación, irritabilidad, insomnio, zozobra, molestia y aumento en la vigilancia, por lo que se desencadenan una serie de reacciones como sudoración, taquicardia, insomnio, temblor, tensión muscular en cabeza o cuello, mareo, hormigüero, dificultad para respirar que llega hasta sensación de ahogo o asfixia, oliguria, dolor torácico, sequedad de boca, hiperventilación, náuseas, defecación y micción frecuente.^{17, 31, 33, 40}

Debido a que la ansiedad, es un problema de salud a nivel mundial se ha estudiado desde diferentes puntos de vista, por ejemplo, la Asociación Mundial de Psiquiatría reporta que la ansiedad se presenta, por la activación del sistema nervioso (SN), a través de estímulos externos o internos en sus estructuras modificando la función cerebral. La activación del SN se traduce como síntomas periféricos derivados del sistema nervioso autónomo (SNA) (aumento del tono simpático) y del sistema endocrino (hormonas suprarrenales), lo que lleva a caracterizar los síntomas físicos de la ansiedad, mientras, que los síntomas en estimulación del sistema límbico (SL) y de la corteza cerebral se traducen en síntomas psicológicos de la ansiedad⁴.

Considerando que en el proceso de ansiedad el SNA participa activamente a través del sistema nervioso simpático (SNS) y del sistema nervioso parasimpático (SNP), tenemos que el SNS prepara al organismo para presentar la respuesta lucha-huida, donde se libera la energía necesaria para reaccionar ante tal respuesta, y a través del SNP se restauran las funciones modificadas por el SNS y el organismo vuelve a su estado “normal”¹⁷.

Durante el proceso de lucha-huída se presenta la sensación de miedo, por lo que cabe mencionar que la ansiedad se diferencia del miedo ya que en éste la persona conoce el objeto externo que le amenaza y se prepara para atacar o huir por medio de una respuesta fisiológica inmediata y de corta duración. Mientras que en la ansiedad el sujeto no conoce el objeto interno por el que se siente amenazado, lo que le provoca un conflicto y una prolongación de la respuesta de lucha-huída.

Entonces, la ansiedad puede presentarse en cualquier individuo y durante cualquier época de su vida, la ansiedad “normal” se vuelve patológica cuando sin razón específica deja de ser un mecanismo de defensa, e interfiere significativamente en la vida cotidiana del individuo, por lo que las autoridades sanitarias mundiales (OMS, DSM-IV) la incluyen dentro de las 10 causas de discapacidad con alta prevalencia relativa, implicando altos costos económicos y laborales y que cuentan con una baja comprensión de los mecanismos neurobiológicos y de las respuestas farmacológicas¹⁵. En México actualmente, 15 millones de mexicanos padecen ansiedad⁵. En la ansiedad patológica las características de los episodios son repetitivas, tienen alta intensidad, duración prolongada, reacción desproporcionada, sufrimiento alto y duradero, así como un profundo grado de interferencia en la vida cotidiana.

Todos estos signos y síntomas están involucrados en la siguiente triada⁵⁶:

- 1) Cognitivo. Generalmente, son temores anticipados, ideas desagradables, y/o preocupaciones injustificadas, malos recuerdos.
- 2) Fisiológico. Por ejemplo, sudoración excesiva, incremento en el ritmo cardiaco, incremento en la velocidad y profundidad de la respiración que puede producir falta de aliento o asfixia; mareo, temblor, etc.
- 3) Motor. Se presentan movimientos repetitivos, llanto, etc.

1.2. CLASIFICACIÓN DE LOS TRASTORNOS DE ANSIEDAD.

Existen dos criterios psiquiátricos internacionales para la clasificación de los trastornos de la ansiedad (TA) como se muestran en el cuadro 1²⁸:

- 1) The Internacional Statistical Classification of Diseases tenth revision (ICD-10 OMS, 1992).
- 2) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (DSM-IV) American Psychiatric Association (APA, 1994)¹⁴.

Cuadro 1. Clasificación de los trastornos de ansiedad en el DSM-IV y en el ICD-10^{14, 28}

ICD-10	DSM-IV
F40 Trastornos fóbicos	300.21 Trastornos de pánico con agarofobia
F40.0 Agarofobia	300.22 Agarofobia sin historia de trastorno de pánico
F40.1 Fobia social	300.23 Fobia social
F40.2 Fobia específica	300.29 Fobia específica
F41 Otros trastornos de ansiedad	300.01 Trastornos de pánico sin agarofobia
F41.0 Trastornos de pánico	300.02 Trastorno de ansiedad generalizada
F41.1 Trastornos de ansiedad generalizada	300.30 Trastorno obsesivo compulsivo
F41.2 Trastorno mixto de ansiedad y depresión	300.24 Trastorno adaptativo con estado de ánimo ansioso
F42 Trastorno obsesivo compulsivo	300.81 Trastornos de estrés postraumático
F43 Trastornos de estrés intenso y trastornos de adaptación	300.82 Trastorno de personalidad por evitación
F43.0 Reacción de estrés aguda	
F43.1 Trastorno de estrés postraumático	
F60.6 Trastorno de personalidad ansiosa (por evitación).	



1.3. ANATOMÍA DE LA ANSIEDAD

Los circuitos neuronales que explican la ansiedad están organizados en diferentes niveles que indican las demandas para los procesos cognitivos. La materia gris periaqueductal y locus coeruleus (LC) median la respuesta autonómica simple, LC ha sido implicado en la génesis de pánico en estudios farmacológicos y anatómicos debido a que su estimulación directa en animales permite una conducta similar a la ansiedad en humanos ⁵⁶ (FIG. 1).

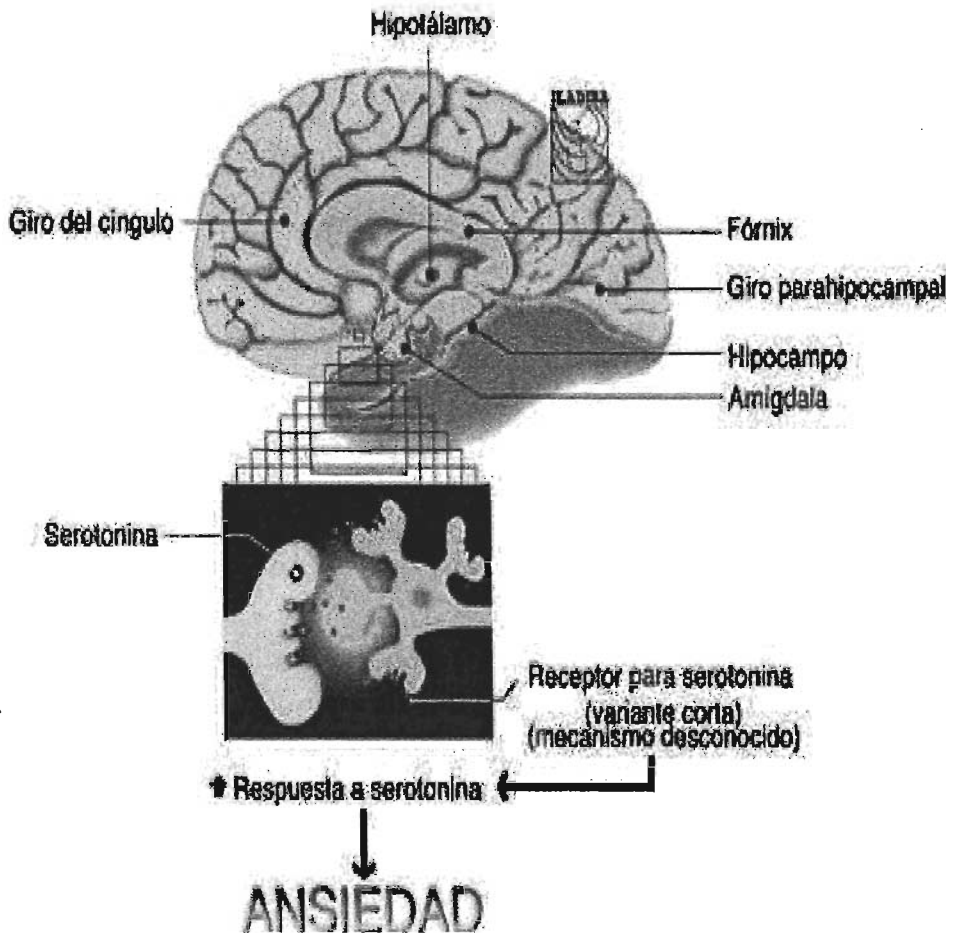


FIGURA 1. Estructuras límbicas implicadas en los trastornos de la ansiedad.

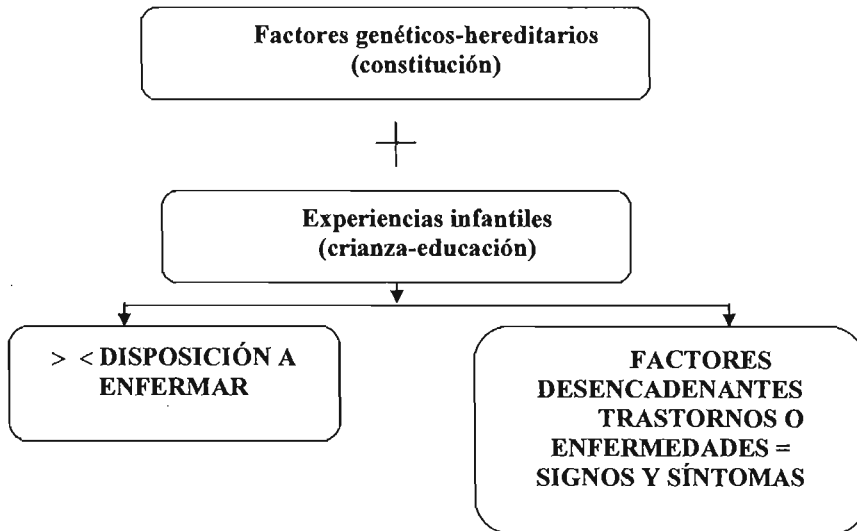
El SL (amígdala e hipocampo) está involucrado en la integración del conocimiento y mecanismos fisiológicos en reacciones defensivas. Por un lado, se ha encontrado que lesionando y/o estimulando a la amígdala se producen implicaciones sobre la expresión, condicionamiento y extinción del miedo o ansiedad aguda²², se cree que es la responsable del condicionamiento clásico⁴². Por otro lado, el estrés causa degeneración en el hipocampo a través de niveles crónicos de glucocorticoides⁴⁸ y el funcionamiento impar de estas áreas. En trabajos realizados con veteranos de Vietnam que sufrieron de trastornos como el estrés postraumático han demostrado una reducción del 8% del volumen hipocámpal, con lo que se muestra que los niveles elevados de ansiedad pueden ser causa de daños estructurales cerebrales como efecto secundario⁹.

1.4 ETIOPATOLOGÍA DE LA ANSIEDAD

Las causas de la ansiedad son múltiples ya que esta puede ser generada por el estrés (miedo provocado por el entorno en el que se desenvuelve el individuo), situaciones emocionales (miedo en situaciones únicas o reiteradas), patologías (insuficiencia coronaria; tumores hipofisarios, de tiroides, paratiroides o glándulas suprarrenales; síndrome premenstrual, enfermedades neurológicas degenerativas, hipoglicemia, alcoholismo, etc.) y medicamentos (anfetaminas, cafeína, cocaína, esteroides, descongestionantes nasales, medicación antiasmática, o la interrupción brusca de neuro o psicofármacos)⁸. Otros factores pueden ser culturales (como los valores morales inculcados, las instituciones educativas y religiosas, el marco legal, frecuencia de culpa y la conducta buscadora de metas mutuamente exclusivas que producen conflicto), estímulos reales amenazantes, estímulo aprendido (es decir, problemas en la valoración del mundo por tener una infancia problemática con sus padres, desacuerdo en el tipo

de educación, rígidos o autoritarios, que crean una visión inadecuada de la realidad y la manera de afrontarla), e, hipocondría (que es la valoración inadecuada de las señales de su propio cuerpo).

Gráficamente, se sostiene lo siguiente acerca del origen de la ansiedad:



Cuando la gente ansiosa no reconoce que sus síntomas físicos son debidos a causas emocionales decide que está físicamente enfermo y fundamenta con ellos su temor y preocupación. Así, la ansiedad limita el alcance de las actividades cotidianas del individuo y disminuye su productividad en el trabajo, debido a que puede alterar la concentración, el raciocinio abstracto, la memoria y la eficacia psicomotora. Entre las manifestaciones somáticas comunes producidas por la ansiedad se encuentran¹⁷:

- ⊗ El corazón late a ritmo acelerado o con fuerza, debido a que la actividad del SNS produce un incremento en el ritmo cardíaco porque aumenta los neurotransmisores como la A y NA, además, se incrementa la fuerza del latido cardíaco vital para la preparación de la actividad ya que ayuda a aumentar la velocidad del flujo sanguíneo y mejora de este

modo el reparto de oxígeno a los tejidos y la eliminación de productos de desecho en los mismos.

- ⊗ Cambio en el flujo sanguíneo. La sangre se retira de la piel, de los dedos de las manos y pies mediante una vasoconstricción. Esto es útil porque si el organismo es “atacado” y sufre alguna lesión, es menos probable que se desangre hasta morir. Por eso, durante la ansiedad la piel se ve pálida y está fría y los dedos se vuelven fríos y en ocasiones experimentan entumecimiento y hormigueo. Además, la sangre se dirige a los grandes músculos como a los muslos y a los bíceps mediante una dilatación de los vasos sanguíneos, ayudando a que el cuerpo se prepare para la acción de huida.
- ⊗ Incremento en la velocidad y profundidad de la respiración. Esto es para que los tejidos estén más irrigados y tengan mayor cantidad de oxígeno para prepararse para la acción. Esto puede producir, sin embargo, falta de aliento, sensación de ahogo o asfixia e incluso dolores u opresión en el pecho. Existen también, efectos secundarios especialmente si no se lleva a cabo ninguna actividad, por ejemplo, que el aporte de sangre a la cabeza disminuya y se produzca una serie de síntomas desagradables que incluyen dolor de cabeza, mareo, visión borrosa y confusión. Esto se puede dar también por respiraciones suspirantes o suspiros.
- ⊗ Incremento en la sudoración. Esto tiene importantes funciones adaptativas como hacer resbaladiza la piel, de manera que es más difícil para un predador sujetar al individuo, otra función de la sudoración es enfriar el cuerpo para que no se caliente demasiado.
- ⊗ Las pupilas se dilatan para dejar que entre más luz, lo cual puede producir visión borrosa y puntitos luminosos enfrente de los ojos entre otras cosas.
- ⊗ Sequedad de boca debido a una disminución de la salivación.

- ⊗ Náuseas, estreñimiento y dolor abdominal ya que existe menor actividad en el sistema digestivo.
- ⊗ Tensión muscular esquelética debido a que los grupos musculares se tensan para prepararse para la lucha o la huida y esto produce sentimientos subjetivos de tensión, que a veces se acompañan de dolores reales (cefalea tensional, constricción del cuello y del pecho, dolor de espalda así como de temblores).
- ⊗ Activación general de todo el metabolismo corporal y, como este proceso emplea gran cantidad de energía, después de una situación de ansiedad el individuo se siente generalmente cansado y agotado.
- ⊗ Agresión y deseo de escapar ya que la respuesta de lucha-huida prepara el cuerpo para atacar o correr, cuando esto no es posible (debido a limitaciones sociales), los impulsos serán expresados mediante comportamientos como dar golpecitos con el pie, pasearse de un lado a otro o hablar bruscamente a la gente.
- ⊗ Cambio inmediato y automático en la atención para explorar los alrededores en busca de una amenaza potencial. Así, se hace muy difícil concentrarse en las tareas diarias cuando uno está ansioso, ya que se produce insomnio y generalmente el interés y la función sexual se alteran.
- ⊗ Disfunción genitourinaria: frecuencia urinaria, disuria, impotencia, dolor pélvico en las mujeres y frigidez.

Aunque la consecuencia de estos signos y síntomas no está bien definida, se ha pensado en la descarga NAérgica como causa de la misma. Dicha descarga se realiza como una unidad produciendo efectos de valor considerable para situaciones de emergencia que preparan al

individuo para la lucha-huida¹⁷. Todo esto, se considera para explicar las diferentes teorías acerca de la génesis de la ansiedad, verbigracia, la teoría de la pluricausalidad prevalece desde hace muchos años, debido a que las pruebas psicológicas y los estudios médicos complementarios (electroencefalografía, mapeos cerebrales, tomografía axial computarizada (TAC) y resonancia magnética nuclear (RMN)) no han podido determinar con exactitud la causa de la ansiedad⁵⁴.

1.5. TEORÍAS DE LA ANSIEDAD

1.5. A. Teoría Genética.

La herencia determina la estructura y funcionamiento del SNC que lleva a una hiperreactividad vegetativa, el trastorno obsesivo-compulsivo (TOC) y la depresión no guardan relación genética con los TA. Sin embargo, se reporta que individuos con trastornos de pánico presentan una incidencia genética del 30-40% proveniente de familiares de primer grado, comparados con el 2-4% de sujetos normales, pero si ambos padres padecen los trastornos de pánico hay una mayor probabilidad de riesgo. Estudios realizados por Torgensen⁵⁴ reportan un 30% de relación en gemelos monocigotos frente al 0% en dizigotos, dicha transmisión parece ser autosómica dominante,^{54, 56, 57} cuyo gen estaría localizado en el cromosoma 16¹⁹.

1.5. B. Teoría psicodinámica

Esta teoría fue postulada por Freud, para él la angustia era un proceso fisiológico insatisfecho, que puede llegar a ser una señal peligrosa en situaciones de alarma. Según su teoría, la angustia procede de la lucha del individuo entre el rigor del super yo y de los instintos prohibidos donde los estímulos instintivos inaceptables para el sujeto desencadenan un estado de ansiedad⁵⁷.

1.5. C. Teoría conductista

Esta teoría se basa en que todas las conductas son aprendidas y en algún momento de la vida se relacionan con estímulos agradables o desagradables adoptando así una connotación que se va a mantener posteriormente. Así, la ansiedad es el resultado de un proceso de condicionamiento de manera que los individuos que la padecen han aprendido erróneamente a asociar estímulos neutros, con vivencias traumáticas y amenazantes, de tal forma que cada vez que se tiene contacto con dichos estímulos se genera una angustia asociada a la amenaza. Mientras, la teoría del aprendizaje dice que también se puede desarrollar ansiedad a través de observaciones de personas significativas del entorno⁵⁷.

1.5. D. Teoría cognitivista

Para la teoría cognitivista la ansiedad es resultado de conocimientos patológicos, es decir, un individuo etiqueta mentalmente una sensación física molesta y la afronta con un estilo y conducta determinados y puede después, interpretarla como una señal de alarma y amenaza para su salud física o psíquica que genera una respuesta neurofisiológica desencadenando así la ansiedad⁵⁷.

1.5. E. Teoría biológica

El modelo de Charney se basa en la neuroanatomía funcional que contempla las bases biológicas de la ansiedad y el miedo como un entramado de redes neuronales, con diferentes estructuras y proyecciones aferentes y eferentes responsables de esta conducta⁵⁴. En neuroquímica la ansiedad se puede explicar en relación con diferentes sistemas de neurotransmisión.

a) Sistema GABAérgico.

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitor del SNC del mamífero, sus receptores principales son: el receptor GABA_A, que es un canal de iones cloruro y, el receptor GABA_B, el cual es un receptor acoplado con proteína G que actúa en vías bioquímicas como en la regulación de los canales de iones³¹ (FIG 2).

El receptor del GABA incluye dentro de su estructura molecular, además del canal del cloro, sitios de reconocimiento para barbitúricos y BZP (fármacos prototipos para el tratamiento de la ansiedad), entre otros. Las BZP actúan en el SN facilitando la neurotransmisión mediada por el GABA, en particular, en los receptores GABA_A. Las BZP aumentan la frecuencia de apertura de los canales iónicos sensibles al cloro y activados por el GABA; es decir, potencian la acción del GABA. Los barbitúricos también favorecen la neurotransmisión GABAérgica, pero aumentando la duración de la apertura de los canales de cloro⁸.

Se ha demostrado experimentalmente, que en situaciones de ansiedad se modifica la actividad de los ligandos a los sitios de unión como lo hacen las BZP, por lo que han surgido tres hipótesis para explicar los mecanismos neurobiológicos involucrados en el comportamiento y reacciones fisiológicas como respuesta a un estímulo externo:

1. La ansiedad se produce ante la presencia de agonistas inversos endógenos en receptores GABA_A, disminuyendo el tono GABAérgico y de esta forma disminuyendo su función inhibitora.
2. Los pacientes con TA pueden tener diferencias en la constitución del sistema BZP-GABA_A por lo que son más vulnerables.
3. El efecto de un agonista exógeno como las BZP puede observarse en personas normales, a pesar de que no se ha logrado identificar claramente este efecto¹⁴.

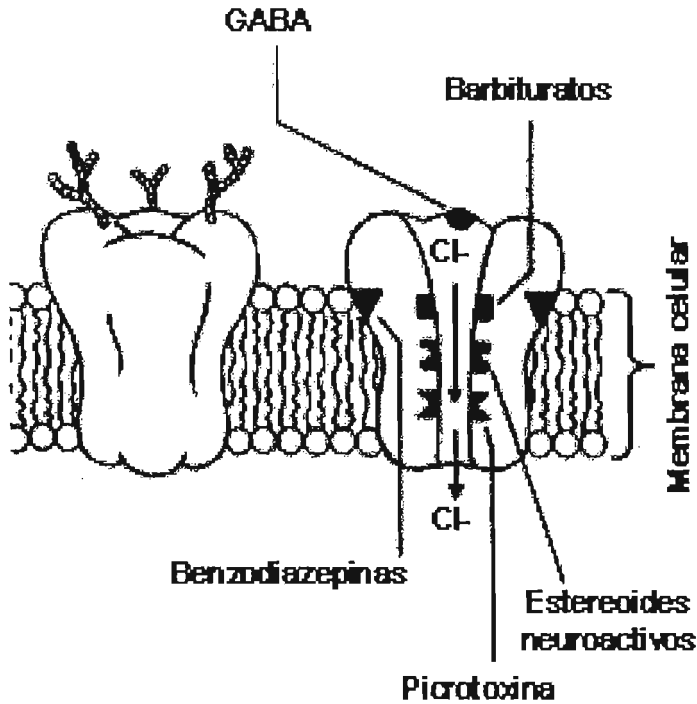
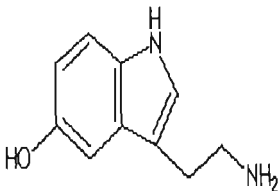


FIGURA 2. Sitios de acción de las BZP y los barbitúricos. Se esquematiza uno de los tipos de receptor del GABA_A. La ocupación de estos sitios puede conducir a aumentar (agonistas) o disminuir (antagonistas) la actividad del receptor y el canal iónico asociado. Por ejemplo, los barbitúricos y los BZP favorecen los efectos del neurotransmisor, es decir, potencian la inhibición. A la inversa, si se bloquean estos sitios, se produce una desinhibición que puede provocar convulsiones⁸.

b) Sistema serotoninérgico.

La 5-Hidroxitriptamina (5HT) o serotonina, es una amina aromática, pertenece a la familia de las indolaminas y está compuesta de un anillo indol hidroxilado en la posición 5 y una cadena lateral etilamínica. Es un neurotransmisor presente en el



SNC que está implicado en la neuroquímica de la ansiedad con mayor frecuencia en los últimos años. Esto se basa en la efectividad de los fármacos serotoninérgicos en el cerebro, núcleos raphe medio y dorsal^{16, 36}.

La ansiedad está relacionada a un incremento endógeno del receptor a 5-HT. Los progresos farmacológicos y en biología molecular describen la existencia de más de 14 subtipos de receptores 5-HT. El desequilibrio indolaminico y su recuperación sobre los receptores específicos parece hallarse involucrado en todos los cuadros patológicos cuyo sustrato es la ansiedad⁴⁰.

Actualmente, se sugiere que la potencia ansiolítica puede estar asociada a receptores presinápticos (verbigracia el receptor 5-HT_{1A} que se localiza en neocorteza, septum, hipocampo, amígdala). La administración de un agonista a este receptor (BUS) en animales provoca un aumento en la interacción social y disminución de mordisqueo¹⁴. Además, la activación de los receptores 5-HT_{1B} produce ansiedad cuando se administran agonistas en ratones. Estos receptores se localizan en la sustancia negra, globo pálido y el estriado¹⁴. La activación del receptor 5-HT_{1A} adiciona al efecto ansiolítico propiedades neuroprotectoras³⁸. Los subtipos 5-HT_{2A} (que se encuentran en hipocampo, estriado, bulbo olfatorio, corteza y médula espinal) y el bloqueo del receptor 5-HT_{2/1c} añade a su efecto ansiolítico acciones antidepresivas; 5-HT_{2c} y 5-HT₃ al ser activados producen ansiedad tanto en animales de experimentación como en el humano. Mientras, que el bloqueo selectivo del receptor 5-HT₃ añade a su efecto ansiolítico acciones antipsicóticas y antieméticas³⁸ (FIG 3).

Vías serotoninérgicas

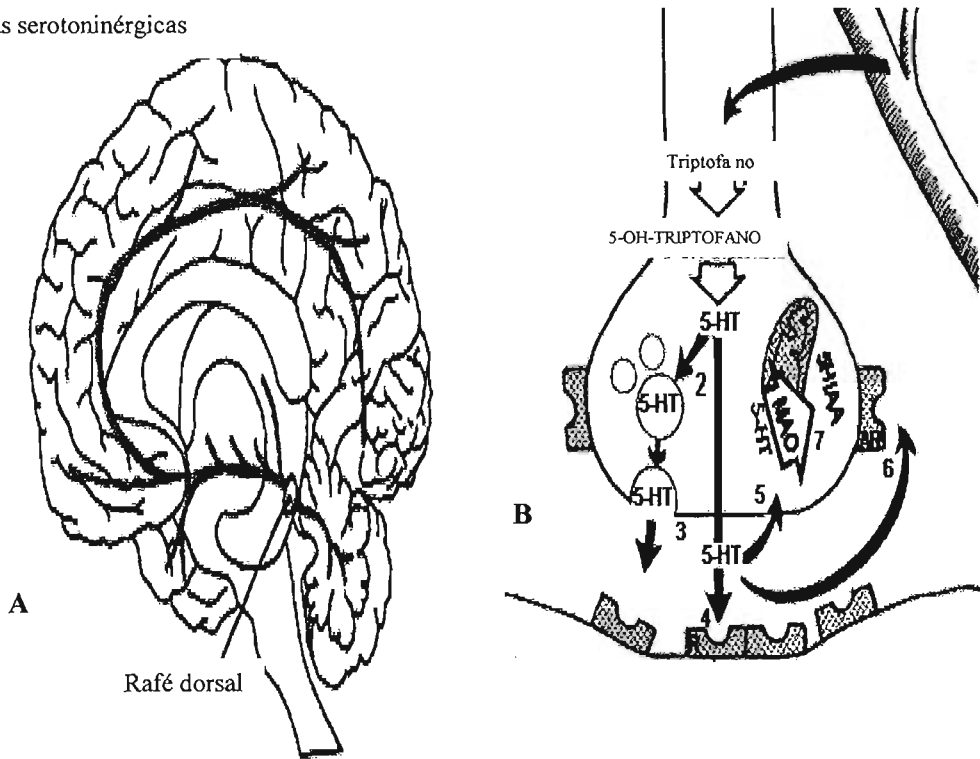
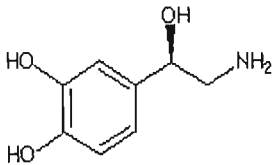


FIGURA 3. En A se muestran las vías de neurotransmisores serotoninérgicos y en B la sinapsis serotoninérgica. La 5-HT se sintetiza a partir del triptófano, el cual se convierte en 5 - hidroxitriptófano por la enzima triptófano-hidroxilasa. La 5-HT puede almacenarse en vesículas (2) y/o liberarse (3). Una vez liberada, puede ocupar receptores postsinápticos (4), recaptarse (5), ocupar autorreceptores (6) o metabolizarse por la MAO mitocondrial (7) hacia ácido 5-hidroxiindolacético (5HIAA).⁸

c) Sistema noradrenérgico



La noradrenalina (NA) es una catecolamina, su nombre químico es (R)-4-(2-amino-1-hidroxietil)-1,2benzenediol, regula la transmisión de impulsos nerviosos postganglionares simpáticos, sus principales receptores son: α_2 , α_1 y β^{40} (FIG 4).

Esta teoría se centra en que la NA incrementa la liberación de la ansiedad, convirtiéndola en “excesiva”. Dicha teoría se sostiene en base a lo siguiente:

1. Que el LC tiene un papel importante en el control de la ansiedad⁶⁰.
2. Que los efectos ansiogénicos de los fármacos que incrementan NA (anfetamina y cocaína)⁴⁶ y sus antagonistas α_2 -adrenoceptores como la yohimbina incrementan a la ansiedad y la frecuencia del pánico en humanos^{14, 23}.
3. Que los agonistas α_2 al ser administrados en animales sometidos al Plus Maze y Vogel producen ansiólisis^{13, 14}.
4. A la evidencia del incremento de actividad simpáticomimética relacionada con los niveles de ansiedad en animales expuestos a paradigmas¹³.

Existen dos conductos mayores de la NA que sugieren una relación en las influencias emocionales sobre el tono muscular en la ansiedad:

- ⊗ Vía central, que se relaciona con las conductas afectivas, como euforia y depresión,
- ⊗ Vía dorsal a la corteza, asociada con las acciones de alerta de estas neuronas.

Vías noradrenérgicas

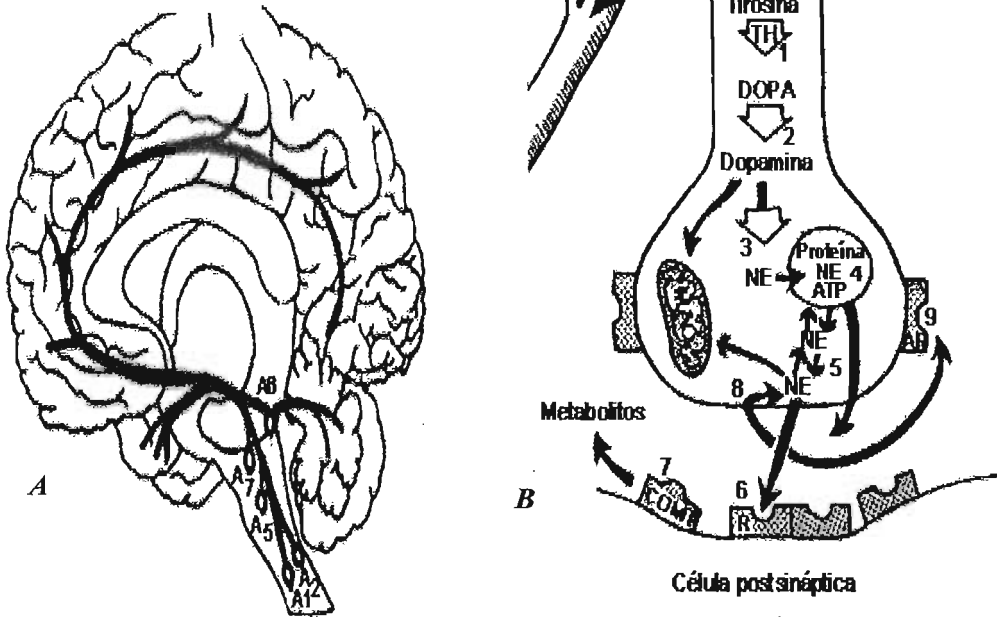
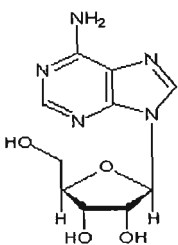


FIGURA 4. Las vías de los neurotransmisores, se indican en A el dibujo del cerebro, así como la localización de grupos neuronales que sintetizan la NA. En B se muestra la sinapsis NAérgica: la tirosina-hidroxilasa (TH) convierte la tirosina en DOPA (1); la DOPA-decarboxilasa la convierte en dopamina (2), y la dopamina- α -hidroxilasa en NA (3). Ésta puede almacenarse junto con otras proteínas sinápticas y con ATP (4) para de ahí liberarse, directa o indirectamente (5). Una vez liberado, el neurotransmisor puede ocupar receptores postsinápticos (6), metabolizarse por la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT) (7), recaptarse (8) para su eventual reutilización u ocupar autorreceptores (AR) (9)⁸.

d) Sistema adenosinérgico.



La adenosina es un neurotransmisor y neuromodulador en diversas funciones metabólicas. La adenosina es un nucleósido que consiste de un azúcar (d-ribosa) y una base de purina (adenina). La adenosina tiene distintos receptores, a saber A₁ que inhibe la adenilato ciclasa y A₂ que estimulan la adenilato ciclasa. Los receptores A_{2A} tienen alta afinidad por la

adenosina y los A_{2B} presentan baja afinidad por la misma.

Se ha propuesto que los antagonistas de los receptores de adenosina A_{2A} reducen la ansiedad, y análogos de la cafeína y teofilina (xantinas) han sido evaluados farmacológicamente por su actividad bloqueadora de los receptores de adenosina⁵⁰ (FIG 5).

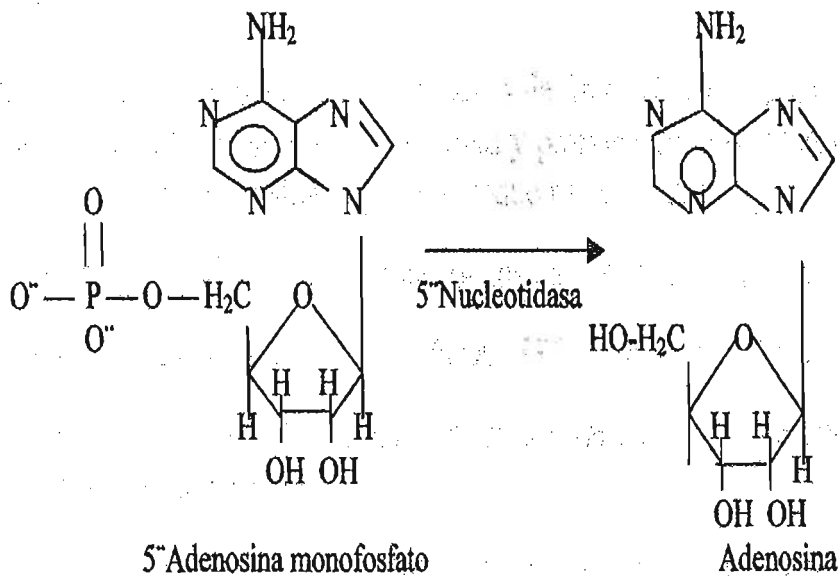
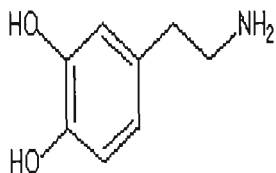


FIGURA. 5. Biosíntesis de la adenosina⁵⁰

e) Sistema dopaminérgico



La dopamina (DA) es una catecolamina endógena, se han identificado los receptores de la dopamina D₁ y D₂⁴⁰, involucrados en los desórdenes de la ansiedad. (FIG. 4 y 6).

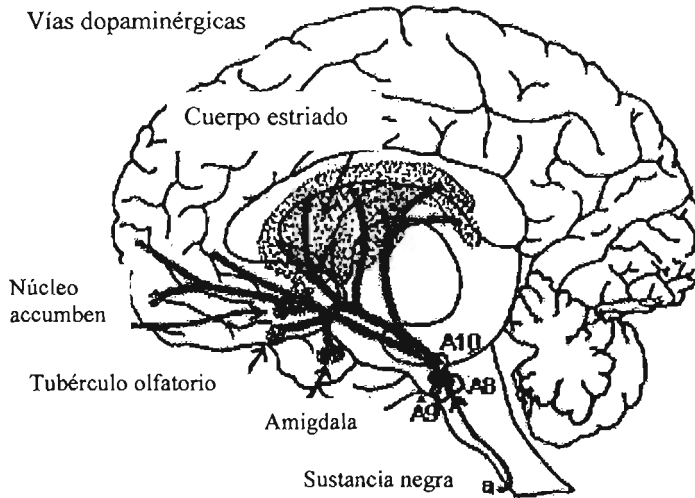
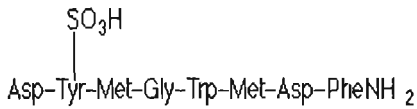


FIGURA 6. Las vías de los neurotransmisores dopaminérgicos.

f) Colecistokinina



La CCK es el mayor neuropéptido distribuido en la corteza cerebral y el SL en mamíferos. Del cerebro se ha aislado CCK₈ en su mayoría con receptores CCK_A

y CCK_B, y un pequeño fragmento de CCK₄ que tiene mayor afinidad por los receptores CCK_B^{37, 70}. Experimentalmente, se ha demostrado que los fármacos agonistas de CCK_A producen angiogénesis, mientras que los antagonistas de CCK_B producen efecto ansiolítico^{14, 21}.

g) Neuropéptido Y

El neuropéptido Y se encuentra en tálamo y tallo cerebral,³⁴ es un péptido de 36 aminoácidos y cotransmisor en neuronas postganglionares parasimpáticas y neuronas vasculares postganglionares simpáticas no adrenérgicas⁴⁰ (FIG. 7).

El NPY esta implicado en TA, se considera que participa en la respuesta compensatoria a la hiperactividad del sistema NAérgico⁵⁴.

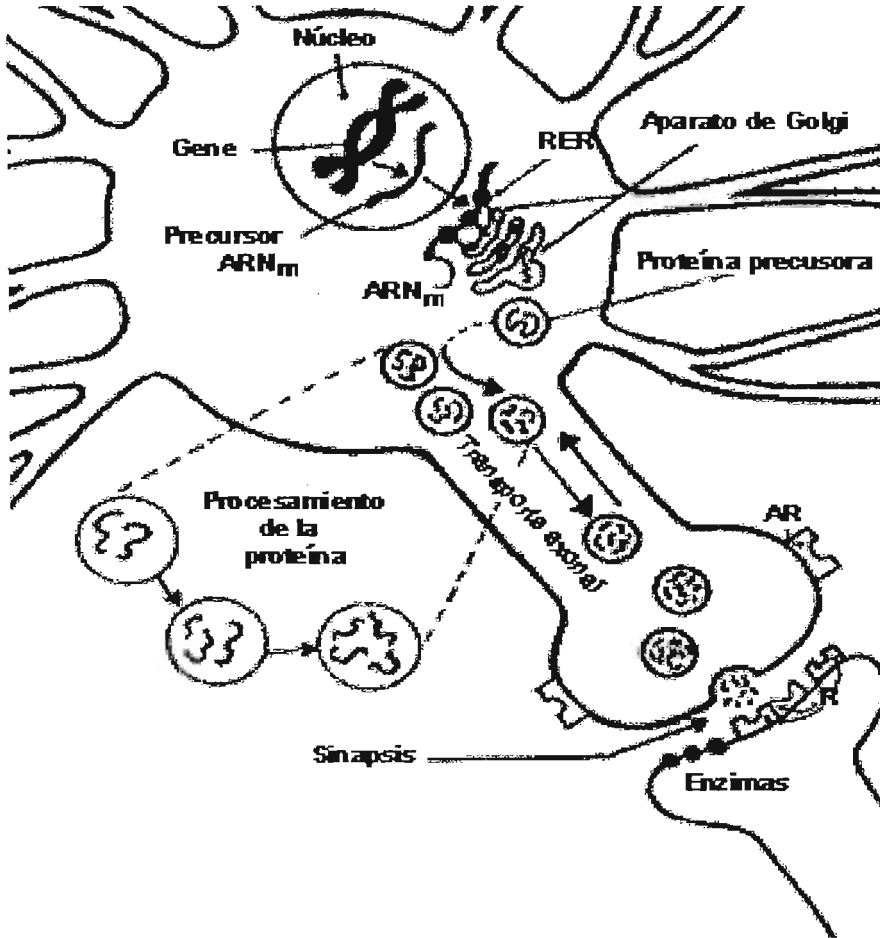


FIGURA 7. En el núcleo de la célula los genes codifican la formación de RNA_m, el cual, en el retículo endoplásmico rugoso (RER) y el aparato de Golgi, se convierte en una proteína precursora, que a su vez se procesa en los almacenes vesiculares al tiempo que se transporta hacia las terminales sinápticas. Este transporte axonal puede ser hacia delante (anterógrado) o hacia el cuerpo celular (retrógrado). Finalmente, la neurona libera péptidos (cadenas de aminoácidos) en la terminal presináptica, que representan fracciones determinadas de la proteína precursora. Una vez liberados, interactúan con receptores propios o ajenos, o se degradan enzimáticamente⁸.

1.6. MODELOS EXPERIMENTALES PARA EVALUAR LOS ESTADOS DE ANSIEDAD.

Para lograr un mejor entendimiento de la neurobiología de la ansiedad, se han desarrollado modelos animales para reproducir algunos de los síntomas observados en humanos¹⁴.

El mejor modelo para el estudio de la ansiedad deberá contar por lo menos con las características siguientes¹⁴:

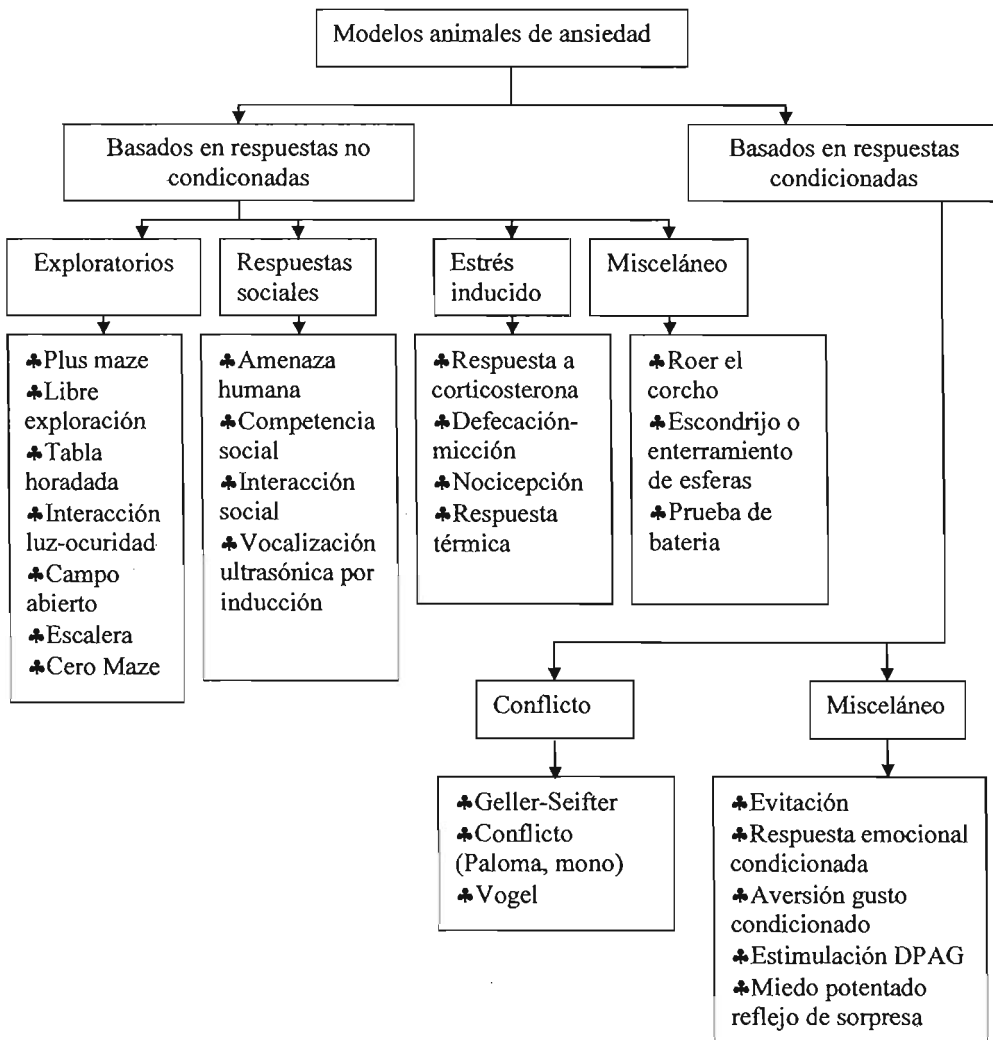
- ❖ No dar falsos positivos, donde la actividad se presenta en el modelo pero no en casos clínicos.
- ❖ No dar falsos negativos, debidos a que el fármaco no es detectado por el modelo, y que este si tenga una actividad en casos clínicos.
- ❖ Tener una fuerte correlación entre la eficacia clínica y la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

Actualmente, los modelos para 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. Además, por razones éticas y de procedimiento es necesario el estudio de mecanismos funcionales de los procesos de ansiedad en modelos de experimentación animal basados en situaciones homologables en su naturaleza a las condiciones del ser humano¹⁵. Los modelos experimentales más empleados se muestran en el diagrama 1.

En la presente tesis se utilizará el efecto ansiolítico en ratas considerando los siguientes signos y síntomas: número de bolos fecales, frecuencia respiratoria, micción, piloerección y mordisqueo, considerando que a mayor efecto ansiolítico menor frecuencia de estos parámetros.

Además se utiliza en la presente tesis la prueba del Escondrijo o de enterramiento de esferas. Este modelo considera la conducta defensiva de enterramiento que presentan los roedores ante un estímulo aversivo, y los efectos ansiolíticos se determinan por que se produce una disminución dosis dependiente de la conducta de enterramiento, además, es selectivo y sensible al efecto de los fármacos ansiolíticos⁵³.

DIAGRAMA 1. Modelos de experimentación animal para la evaluación de la ansiedad^{2, 14}.



1.7. EPIDEMIOLOGÍA

Se reportó en estudios epidemiológicos de la SSA que las familias pobres tienen mayor predisposición a padecer depresión y TA, asimismo la cifra de familias pobres con TA son más altas entre las familias uniparentales comparadas con los patrones tradicionales de madre y padre¹².

En la ciudad de México el 13.9% de los hombres y mujeres que cubrían el criterio de ansiedad del DSM-IV buscaron ayuda. Estudios locales indicaron que los médicos generales son la primera fuente de ayuda para el 42% de las personas aquejadas por TA, los psicólogos son la segunda fuente, los psiquiatras son la tercera fuente entre los hombres (32%) y los sacerdotes entre las mujeres (26%); los curanderos tradicionales fueron consultados por el 9% de los hombres y 11% de las mujeres^{49, 55}. Los últimos estudios estadísticos obtenidos por National Comorbidity Survey¹², 2001; indican que la prevalencia de los TA en conjunto son del 24.9%. Lo cual implica que una de cada cuatro personas se encuentra afectada en mayor o menor medida por alguno de estos trastornos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Prevalencia de los trastornos de ansiedad¹².

Trastorno de Pánico	3,5 %
Agorafobia con o sin pánico	5,3 %
Trastorno de Ansiedad Social (Fobia Social)	13,3 %
Fobia Específica	11,3 %
Trastorno de Ansiedad Generalizada (TAG)	5,1 %
Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC)	2,5 %
Trastorno por Estrés Postraumático (TEPT)	9 %
Algún Trastorno de Ansiedad	25 %

Los TA, excepto el TOC, tienen una frecuencia del 71% en mujeres mientras, que en hombres su frecuencia es del 29%, debido a factores biológicos, hormonales y sociales que hacen a las mujeres más vulnerables.

En Estados Unidos Americanos, el costo que genera el total de los TA corresponde al 11 % del gasto total en salud y según Notimex en México se observa el mismo panorama¹².

1.8. TRATAMIENTO DE LA ANSIEDAD

Los síntomas de la ansiedad pueden aliviarse a pesar del desconocimiento de su exacta etiología, las terapéuticas más eficaces y rápidas son: psicofarmacoterapia específica (implica terapia psicológica acompañada de medicamentos), psicoterapia (terapias cognitivo-conductuales), en conjunto con la participación en grupos de autoayuda, y terapias autorreguladoras (relajación progresiva o meditación). Cabe aclarar que no se puede asegurar actualmente una remisión absoluta y permanente de todos los síntomas de la ansiedad. Así como la no existencia de lapsos fijos de tiempo para el tratamiento.

A pesar de que el fenobarbital, meprobamato, hidroxicina, difenhidramina, continúan empleándose, actualmente, el tratamiento para los TA consiste en el grupo de las BZP. La elección de administrar una determinada BZP se basa en los siguientes principios farmacológicos²⁴:

1. Fármaco con índice terapéutico relativamente alto.
2. Bajo riesgo de interacción con otros fármacos por inducción enzimática.
3. Tasas de eliminación bajas para favorecer su presencia en SNC.
4. Riesgo de dependencia fisiológica baja con pocos síntomas de abstinencia.

Las BZP se dividen en dos grupos según su uso:

- I. Hipnótico o inductor del sueño
- II. Ansiolítico o tranquilizante.

Sin embargo, otra clasificación de las BZP es por vida media ($v_{1/2}$) de eliminación²⁶:

A. Acción ultracorta, cuya $v_{1/2}$ de eliminación sanguínea está entre 2 y 5 h.

Estas son las que generalmente se prefieren como inductores del sueño porque el tiempo de acción es más rápido.

B. Acción corta e intermedia. La $v_{1/2}$ de eliminación es de 10-12 h y de 12-30 h respectivamente. Sus principales riesgos son la dependencia y abstinencia.

C. Acción prolongada. Su $v_{1/2}$ de eliminación es de más de 30 h. Sus principales riesgos son acumulación y sus efectos sedantes tardíos.

Químicamente, la estructura de las BZP esta compuesta por un anillo bencénico, un anillo diazepínico y una anillo 5-arílico²⁶.

Las BZP facilitan la hiperpolarización neuronal por medio del complejo macromolecular del canal de cloro (Cl⁻) receptor del GABA. Su mecanismo de acción es mediante receptores neuronales específicos que abren el canal de Cl⁻ y estimulan el sistema GABAérgico sobre todo el SL y la corteza frontal, produciendo inhibición en las neuronas excitadoras.

El factor inhibidor de las BZP (IFD) que tiene una acción GABAérgica con liberación central de A y NA y como consecuencias fisiológicas: aumento del estado de alerta, hipervigilancia, sensación de miedo y trastornos somáticos asociados.

Las BZP producen sedación, hipnosis, anestesia, alivian los estados de ansiedad, reducen la aprehensión, disminuyen la tensión, son potentes relajantes musculares y anticonvulsivos²⁶. Sin embargo, tienen como desventaja su tendencia a producir dependencia psicológica y física,

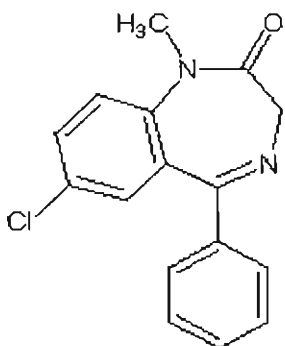
genera tolerancia, la formación de metabolitos activos y su costo relativamente elevado. Además ejercen depresión aditiva del SNC cuando se administran con otros medicamentos, incluyendo etanol, por lo que el paciente debe ser advertido para evitar que se altere su rendimiento en cualquier actividad que requiera agilidad mental y coordinación motora (Cuadro 3)^{8, 24, 26, 40, 57}.

Cuadro 3. Fármacos utilizados en el tratamiento de la ansiedad²⁶

	Fármaco	Duración de acción en h.	Usos
BZP	Midazolam	Ultracorta: 4 – 6h.	Hipnótico / anestesia i. v.
	Lorazepam	Intermedia: 12 – 18h.	Ansiolítico / anestesia i. v.
	Alprazolam	Intermedia: 24h.	Ansiolítico / antidepresivo/ pánico.
	Clonazepam	Larga: 30h.	Anticonvulsivante / ansiolítico / pánico.
	Diazepam	Larga: 36h.	Ansiolítico/ relajante muscular/ anticonvulsivante por vía i. v.
Azapironas	Buspirona	Metabolito activo: 12h.	Ansiolítico.

El DIAZ es el fármaco prototipo del grupo de las BZP. Sin embargo, debido a que la elección terapéutica debe particularizarse en cada entidad nosológica que conforman los estados ansiosos, se pueden emplear otros fármacos¹⁴.

En el TAG los antagonistas 5HT_{1A} son tan eficaces como las BZP pero carecen de utilidad frente a crisis de pánico, también se puede dar un antidepresivo tricíclico. Las monofobias, en cambio, responden a los inhibidores selectivos de la recaptura de 5HT, siendo particularmente útil la Fluovamina para el tratamiento de fobia social. En las crisis de pánico el tratamiento de elección es la Clorimipramina, en dosis inferior a la antidepresiva para controlar la intensidad y frecuencia de las crisis. En el TOC la Clorimipramina es eficaz pero a una dosis mayor y con mayor tiempo de latencia que para su efecto antidepresivo, cuando la depresión es prominente también se dan inhibidores de la MAO⁵⁷.

1.8. A. Diazepam

Nombre químico: 7-Cloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona.

Nombre genérico: diazepam; metil diazepinona.

Nombre comercial: Alboral®, Diatex®, Ortopsiq®, Relazepam® y Valium®.

Fórmula Molecular: $C_{16}H_{13}ClN_2O$

Peso molecular: 284.7³⁷

El diazepam (DIAZ) pertenece a las BZP tiene propiedades ansiolíticas y antineuróticas, psicosedativas, antiagresivas, sedantes, miorelajantes, anticonvulsivantes y potencializadoras de hipnóticos, anestésicas y analgésicas. Se sabe que esto es resultado de facilitar la acción del GABA.

El DIAZ se utiliza en animales en forma inyectable y oral. El preparado inyectable contiene 5 mg/ml de DIAZ en propilenglicol (PEG) al 40%, alcohol etílico 10% (disolvente) y alcohol bencílico al 1.5% (conservador)¹. La dosis ansiolítica en ratas es de 2.0-5.0 mg/Kg vía intramuscular (i. m) o intraperitoneal (i. p.)²⁰.

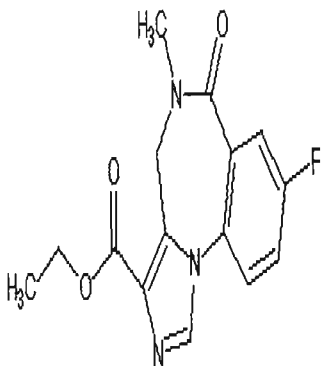
En la inyección i. p. la absorción es completa. El DIAZ y sus metabolitos se unen en un 98% a proteínas plasmáticas. Atraviesan las barreras sangre-encéfalo y placentaria y se encuentran también en la leche materna. La $v_{1/2}$ de la distribución llega hasta 3 horas. Se metaboliza principalmente a metabolitos farmacológicamente activos como N-desmetil-diazepam, temazepam y oxazepam; se excretan principalmente en la orina, predominando sus formas conjugadas. La depuración del DIAZ es de 20-30 ml/min. El DIAZ está contraindicado en

hipersensibilidad a las BZP, y a cualquiera de sus excipientes, en insuficiencia respiratoria severa e insuficiencia hepática grave y síndrome de apnea del sueño. Las BZP no deberán utilizarse solas para tratar la depresión o ansiedad asociada con depresión, ya que podría sobrevenir un suicidio en dichos pacientes. Después de la administración reiterada durante un período prolongado, puede manifestarse una disminución de la respuesta a la acción de las BZP. Su consumo puede originar dependencia física y psíquica. Este riesgo aumenta en relación directa con la dosis y la duración del tratamiento. En pacientes con antecedentes de alcoholismo o drogadicción el riesgo es mayor.

Como reacciones adversas en el tratamiento con DIAZ pueden presentarse fenómenos como somnolencia, bloqueo de las emociones, reducción de la agudeza mental, confusión, fatiga, cefalea, vértigo, debilidad muscular, ataxia, diplopía, se presentan generalmente al comienzo de la terapia y desaparecen frecuentemente con la administración prolongada. Otros efectos colaterales, tales como trastornos gastrointestinales, disminución de la libido, hipersalivación, dificultades en el lenguaje, hipotensión, incontinencia o reacciones cutáneas, fueron comunicados en forma ocasional.

Cuando el DIAZ es utilizado asociado con antipsicóticos, hipnóticos, ansiolíticos/sedantes, antidepresivos, analgésicos narcóticos, antiepilépticos, anestésicos y sedantes antihistamínicos, puede manifestarse una intensificación del efecto depresor central.

La sobredosis con BZP se manifiesta con síntomas que van de somnolencia hasta coma. Después de una sobredosis con BZP, deberá inducirse el vómito (dentro de la siguiente hora) si el paciente está consciente, o bien llevar a cabo un lavado gástrico con las vías aéreas protegidas si el paciente está inconsciente. Si no existe ninguna ventaja en vaciar el estómago, deberá administrarse carbón activado para reducir la absorción. EL Flumazenil (FLU) puede ser utilizado como eficaz antagonista^{25, 37, 67}.

1.8. B. Antagonista benzodiazepínico: Flumazenil ^{14,18, 24, 25, 43, 67, 70}

Nombre químico: 8-Fluoro-5,6-dihidro-5-metil-6-oxo-4H-imidazo [1,5-a] [1,4] benzodiazepina-3-ácido carboxílico etil éster; etil-8-fluoro-5,6 dihidro-5-metil-6-oxo-4H-imidazo [1,5-a] [1,4] benzodiazepina-3-carboxilato.

Nombre genérico: flumazenil.

Nombre comercial: Anexate®, Lanexat®, Mazicon®.

Fórmula molecular: C₁₅H₁₄FN₃O₃

Peso molecular: 303.29³⁷.

El FLU está indicado para la reversión parcial o total de los efectos sedantes centrales de las BZP: para terminar la sedación de pacientes sometidos a procedimientos diagnósticos o terapéuticos cortos, para el diagnóstico y tratamiento de una sobredosificación de BZP; para diagnosticar estado de inconsciencia por BZP, a otros fármacos o a lesión cerebral.

El FLU es una base lipófila débil, se une a las proteínas plasmáticas en un 50%, aproximadamente. Sus concentraciones plasmáticas disminuyen con una $v_{1/2}$ de 4 a 11 min durante la fase de distribución. Se metaboliza en el hígado. El metabolito ácido carboxílico es el principal metabolito que se encuentra en forma libre en el plasma y en forma libre y conjugada en la orina. Este metabolito no presentó actividad de agonista o antagonista de BZP en pruebas farmacológicas. Se excreta sin cambios en la orina, sugiriendo la degradación metabólica completa del fármaco en el organismo. Su $v_{1/2}$ de eliminación es de 40 a 80 min. Su depuración plasmática total es de 0.8 a 1.0 L/Kg/h y puede ser atribuida de manera casi completa a la depuración hepática. En pacientes con disfunción hepática, la $v_{1/2}$ de eliminación del FLU es mayor y la depuración total del organismo es menor que en sujetos sanos. La farmacocinética del

FLU no se ve afectada de manera significativa por el género, edad, práctica de hemodiálisis una hora después de la administración o falla renal.

El FLU es un derivado de las imidazobenzodiazepinas. Inhibe competitivamente a los agentes que actúan vía los receptores a BZP, bloqueando específicamente sus efectos sobre el SNC. En experimentos con animales, los efectos de los compuestos que muestran afinidad por el receptor de las BZP fueron bloqueados. Los efectos sedante-hipnóticos de las BZP son revertidos rápidamente después (1 a 2 min) de la inyección i. v. y pueden reaparecer gradualmente dentro de las siguientes horas, dependiendo de la $v_{1/2}$ y proporción de dosis del agonista y el antagonista.

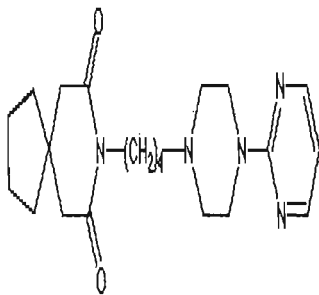
Está contraindicado en casos de hipersensibilidad al preparado y en pacientes que reciben tratamiento BZP para el control de un padecimiento potencialmente riesgoso, como el control de la presión intracraneal, estado epiléptico, etcétera. No debe administrarse para anular los efectos benzodiazepínicos en presencia de síntomas neurovegetativos (anticolinérgicos), neurológicos (alteraciones motoras) o cardiovasculares de la intoxicación grave por antidepresivos tricíclicos o tetracíclicos.

Deben tomarse precauciones especiales cuando se utilice debido a los efectos tóxicos (convulsiones y disritmias cardíacas) que puedan producirse por acción del FLU sobre otros fármacos tomados en sobredosis (especialmente antidepresivos cíclicos), cuando se efectúe la reversión de los efectos benzodiazepínicos en los casos de sobredosis mixta. Cuando se utilice con agentes bloqueadores neuromusculares, éste no deberá ser administrado hasta que los efectos del bloqueo neuromuscular hayan sido totalmente revertidos. Deberá evitarse manejar vehículos o maquinaria peligrosa durante las 24 h siguientes a la administración, ya que puede reaparecer el efecto de la BZP administrada previamente. En caso de administrarse rápidamente puede presentarse ansiedad y palpitaciones que en general no requieren tratamiento especial. Se han reportado convulsiones en pacientes de quienes se sabe sufren epilepsia o

disfunción hepática severa, particularmente después de tratamientos prolongados con BZP o en los casos de sobredosis mixta. Se bloquea los efectos centrales de las BZP por interacción competitiva a nivel de receptor, así como los de agonistas no benzodiazepínicos (zopiclona y triazolopiridazinas).

Debe administrarse por vía i. v. directamente o por infusión diluyéndose con solución glucosada al 5%, Ringer lactato o cloruro de sodio al 0.9%. La dosis debe ser titulada para alcanzar el efecto propuesto. La dosis ansiogénica en ratas es de 0.1-1mg/Kg. No se han observado síntomas de sobredosificación, aún después de la administración i. v. de 100 mg. En lo que concierne a los síntomas de abstinencia son atribuibles al agonista.^{41, 43}

1.8. C. Buspirona



Nombre químico: 8-[4-[4-(2-Pirimidinil)-1-piperazinil]butil]-8-azaspiro[4.5]decano-7,9-diona.

Nombre genérico: Buspirona.

Fórmula empírica: $C_{21}H_{31}N_5O_2$; peso molecular: 385.51.

Nombre comercial: Buspimen®, Buspar®, Buspinol®, Buspisal®, Censpar®, Lucelan®, Narol®.

LD₅₀ i.p. en ratas: 136 mg/kg.³⁷

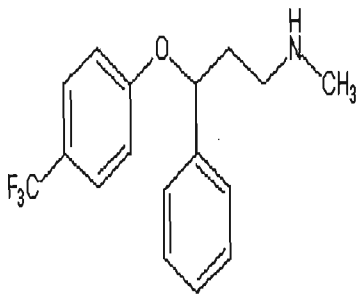
En 1986 se introdujo la BUS como ansiolítico, es la única azapirona comercializada, actúa sobre los receptores 5-HT_{1A} presinápticos inhibiendo las descargas serotoninérgicas ansiogénicas de los núcleos mesoencefálicos del rafé medio, a la vez que estimula la actividad noradrenérgica del LC, razón por la cual no tiene efectos sedante-hipnóticos, así como actividad euforizante.

Tiene actividad ansiolítica pura, es decir, sin efectos hipnóticos, relajantes musculares ni anticonvulsiantes, tiene un periodo de latencia efectivo de unas dos o tres semanas, imposibilita la automedicación por no ser percibida la asociación del efecto con el medicamento, y no tiene potencial de abuso.

Es la primera elección como ansiolítico sobre todo si en el paciente están contraindicadas las BZP. 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, produciendo metabolitos con actividad farmacológica. Como efectos secundarios se presenta cefalea, inquietud motora, náuseas y vómitos, erupción cutánea, temblor, euforia, agitación e insomnio, rara vez taquicardia, palpitaciones y sequedad de boca.

La principal interacción farmacológica la presenta con los IMAO, esta contraindicada en casos de hepatopatía y neuropatía graves, durante el embarazo y la lactancia. Las dosis ansiolítica de BUS en ratas es de 1.25, 2.5 y 5 mg/kg.^{3, 8, 26, 31, 37, 57}

1.8. D. Inhibidor de la recaptura de serotonina: Fluoxetina²⁵



Nombre químico: (+/-)-N-Metil-δ-[4-(trifluorometil)fenoxi] benzenepropanamina.

Nombre genérico: Fluoxetina

Fórmula empírica: C₁₇H₁₈F₃NO

Peso molecular: 309.33.³⁷

La FLUO es un antidepresivo inhibidor selectivo de recaptura de 5-HT, en TOC. Se absorbe bien después de su administración oral, obteniéndose las concentraciones plasmáticas

pico de 6 a 8 h. Se une a proteínas plasmáticas en 90 a 94%. Su metabolismo es a nivel hepático, tras un proceso de desmetilación en la molécula se originan diversos metabolitos siendo el más activo la nonfluoxetina. La $v_{1/2}$ de la FLUO y su metabolito es de 24 a 72 h; su eliminación es lenta, de 2 a 3 días y 7 a 9 días para el metabolito nonfluoxetina, principalmente por metabolismo hepático a metabolitos inactivos excretados por el riñón.

La FLUO esta contraindicada en casos de hipersensibilidad al principio activo, niños menores de 14 años, administración concomitante con IMAO o dentro de los 14 días siguientes a la suspensión del tratamiento con IMAO. Deber ser administrada con precaución en pacientes con alteraciones hepáticas. No debe administrarse en mujeres que estén amamantando porque se excreta en la leche materna. Las reacciones colaterales de la FLUO son: cefalea, nerviosismo, insomnio, somnolencia, agitación, ataxia, pérdida de peso, anorexia, aumento del apetito, euforia y alucinaciones, manía, escalofríos, aumento de la salivación, bronquitis, rinitis, malestar general, diarrea, colitis, úlcera duodenal, ictericia, leucopenia, hepatomegalia, tiempo de sangrado prolongado y osteoporosis.

La FLUO interacciona con litio produciendo toxicidad por aumento o disminución del nivel de litio en sangre; con triptófano puede producir trastornos gastrointestinales, agitación e inquietud; y con IMAO puede provocar potencialización. En pacientes de edad avanzada o con insuficiencia renal y hepática, la administración concurrente de FLUO y DIAZ puede ocasionar la acumulación de ambos fármacos en tratamientos prolongados. La dosis como antidepresivo en adultos es de 20 a 80 mg al día como máximo, por vía oral. En casos de sobredosis o intoxicación con FLUO se pueden presentar los siguientes síntomas: náuseas, vómito, agitación e inquietud. El tratamiento en casos de sobredosis consiste en mantener las vías aéreas adecuadas para

ventilación y oxigenación. La administración de carbón activado combinado con sorbitol y DIAZ se empleará en caso de convulsiones.

1.8. E. Glándula Pineal.

La G. P. o Epífisis cerebri recibe este nombre por su forma de cono truncado, los griegos la denominaron Konareion y después se tradujo al latín a Conarium. En los peces, anfibios y reptiles lacértidos, la G. P. tiene estructuras fotorreceptoras. En algunos anfibios anuros y en reptiles lacértidos hay órganos parapineales ubicados sobre el cráneo, debajo de la piel, unidos a la G. P. por el nervio pineal o conarii. La estructura pineal de los mamíferos tiene función endócrina^{31, 34} (FIG. 8).

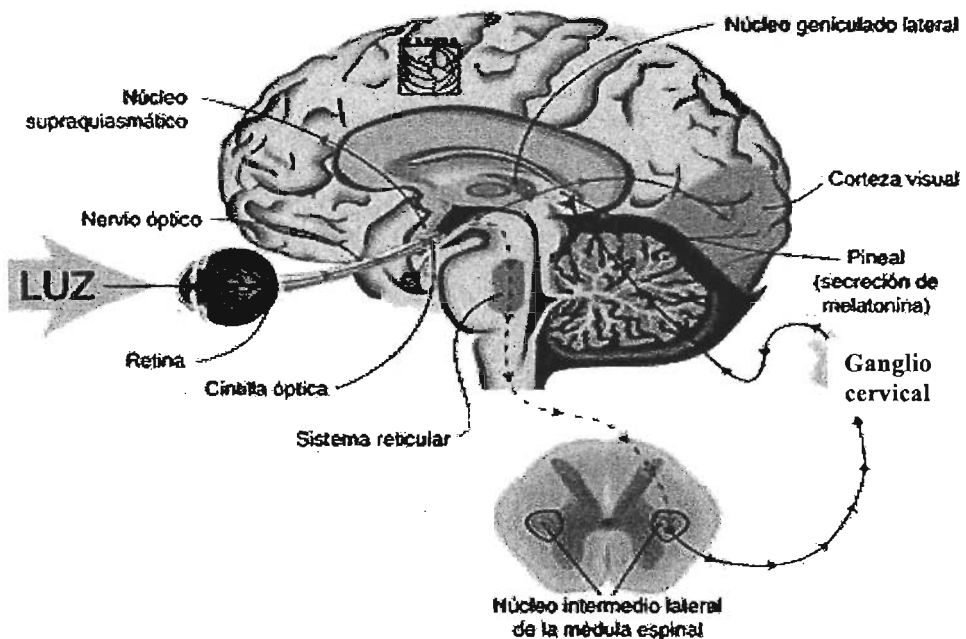


FIGURA 8. Acción de la iluminación de la Glándula Pineal.³⁴

La G. P. en el ser humano es una evaginación de la parte posterodorsal del techo del tercer ventrículo y está unida por un tallo pineal a las comisuras habenular y posterior. Se trata de un cuerpo pequeño y alargado, de 100-200 mg de peso, bañado de líquido cefaloraquídeo y situado debajo de la parte posterior del cuerpo calloso³⁴.

Esta constituida por pinealocitos en un 85% y células gliales en un 15%. Examinados con el microscopio los pinealocitos presentan prolongaciones citoplasmáticas de longitud variable que están en contacto con los espacios perivasculares y con la cavidad ventricular.

La G. P. esta inervada por el SNA, recibe fibras posganglionares del ganglio simpático cervical superior, a través de los nervios coronarios, que se encuentran en el cerebelo, pero también, a través de fibras que acompañan los vasos sanguíneos. Su neurotransmisor es la NA. Las terminaciones neuronales también tienen 5-HT, producida en los pinealocitos y captada por dichas terminaciones. Las fibras adrenérgicas terminan en su mayoría a nivel de los pinealocitos.

En el ser humano y en el mono recibe también fibras preganglionares parasimáticas. La G. P. humana se calcifica progresivamente con la edad, pero esto no significa que sus funciones disminuyan³⁴.

La relación existente entre el fotoperiodo y la G. P. constituye una ventaja evolutiva que permite a los individuos adaptarse en una forma más eficiente a su entorno ambiental, por lo que no es de extrañarse que las especies con G. P. voluminosas y complejas, sean aquellas que habitan las zonas templadas y polares; donde las condiciones ambientales son muy variables y extremosas, mientras que las especies con G. P. pequeñas y de organización simplificada, habitan regiones circutropicales. Además, en los animales polares la G. P. participa en la termorregulación, en la entrada y salida del estado letárgico del sueño y también en hibernación.

La función más estudiada de la G. P. es su participación en la reproducción, sobre todo de tipo estacional, la cual está subordinada a la duración diaria de la iluminación. Estudios experimentales con hámster y carnero a los que se les realizó la pinealectomía se encontró una desincronización de la actividad reproductora en relación al ciclo anual del entorno y la sobrevivencia de las crías se compromete, puesto que las crías nacen en una época del año desfavorable para su supervivencia. La administración de MEL en estos animales restaura el ciclo estacional de la reproducción³⁴.

Dentro de los compuestos que se sintetizan y liberan en la G. P. tenemos a los péptidos e indoles de los cuales el indol MEL es la principal hormona de la G. P.³⁴ (FIG. 9).

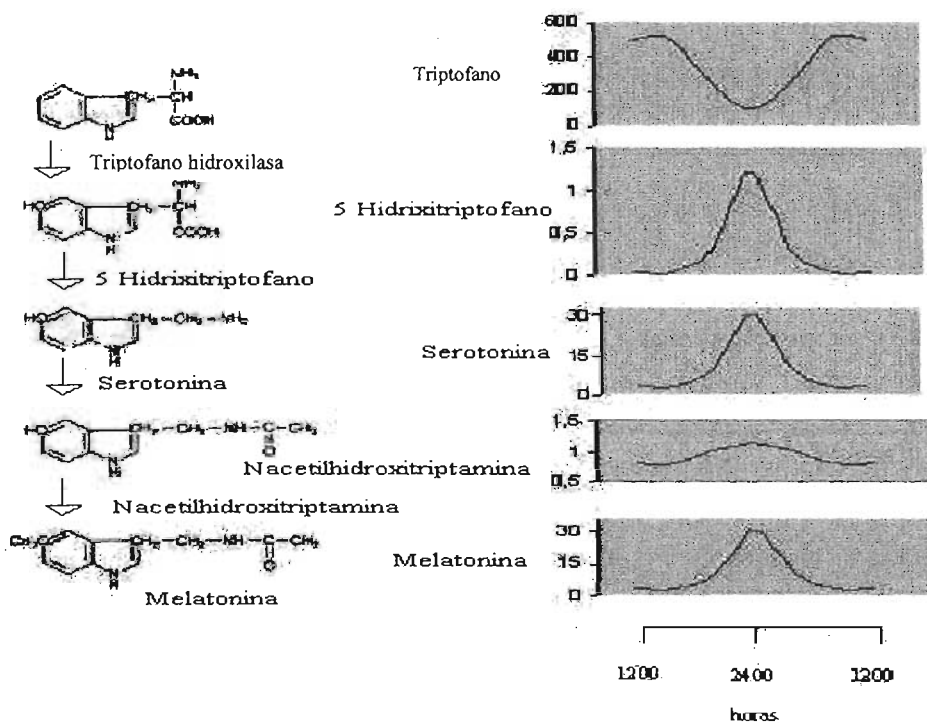
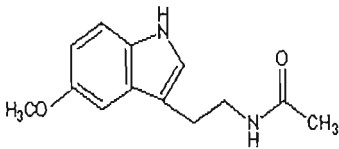


FIGURA 9. Biosíntesis de la melatonina y las variaciones de concentración de varios componentes de la vía biosintética a lo largo del día.³⁴

Quizá, la característica fundamental en las funciones de la G. P., sea su variabilidad funcional, es decir, sus acciones dependen de la especie animal, de la época del año y de la hora del día. Por ejemplo, en los vertebrados inferiores actúa sobre la respuesta cromática dérmica a los cambios de la luz ambiental; en los roedores, interviene en la regulación de la función gonadal, mientras que en animales superiores, incluyendo al hombre, la G. P. está vinculada con procesos de conducta, consecuencia de algunos cambios en la actividad eléctrica del SNC que son provocados por hormonas. Así en los mamíferos, las hormonas provocan efectos anticonvulsivos, hipnagénicos, sedantes y ansiolíticos; además de que también modulan la producción y liberación de varias hormonas.

1.8. F. Melatonina



Nombre químico: N-[2-(5-Metoxi-1H-indol-3-il) etil] acetamida; N-acetil-5-metoxitriptamina;

Nombre genérico: Melatonina

Fórmula empírica: C₁₃H₁₆N₂O₂

Peso molecular: 232.28.³⁷

La hormona indólica más importante, tanto por su producción como por sus efectos, es la MEL, en 1958 fue aislada de la G. P. de bovinos por Lerner y cols, su nombre se debe a su 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. La MEL es altamente liposoluble y poco hidrosoluble, por lo que se disuelve en PEG o en etanol. Posee un enorme margen de seguridad ya que para ejercer efectos tóxicos se requiere de dosis mayores a 800 mg/Kg, cuando las dosis fisiológicas oscilan en pg³⁴.

La MEL^{25, 34, 40, 52} se utiliza para corregir los ciclos circadianos de sueño y vigilia en pacientes que sufren cambios de horario por viajes o por actividad laboral ("jet lag", ciclo vigilia-sueño), estimula las defensas inmunitarias, antioxidante, ansiolítico, anticonvulsivo, sedante, reductor de la insulina basal, relajante de músculo liso, protege de enfermedades cardiovasculares, como tratamiento de insomnio y estrés, en cambios del metabolismo y en procesos neurológicos degenerativos.

La MEL es una hormona que ejerce acción mediante receptores distribuidos a nivel cerebral, los cuales activan proteínas fijadoras y enzimas como el trifosfato de guanosina, adenilato ciclasa y fosfodiesterasas a nivel intracelular. Administrada por la tarde o al anochecer logra una adecuada inducción del sueño, disminuye el periodo de latencia, incrementa la duración y la calidad del sueño, y facilita un despertar reconfortante. La MEL por vía oral se absorbe rápidamente, alcanzando su pico máximo entre los 30 min y 2 h después de su administración. Posterior a su absorción sufre un metabolismo de primer paso. Se distribuye ampliamente a líquidos y tejidos corporales. Se metaboliza a nivel hepático a 6-hidroxi melatonina y N-acetilserotonina, las cuales son excretadas como conjugados de glucurónido y sulfato. La mayor parte de la MEL se excreta por vía urinaria como 6-hidroxi melatonina y sólo mínimas cantidades de la hormona se eliminan sin cambios. Su $v_{1/2}$ de eliminación es de 30 a 50 min. Los pacientes con hepatopatías tienen mayores concentraciones plasmáticas y $v_{1/2}$ del medicamento, por lo cual, se recomienda ajustar la dosis. Las concentraciones plasmáticas máximas, después de la administración de 2 mg de MEL se elevan hasta 3,000 pg/ml para declinar, 3 a 4 horas después, a los niveles fisiológicos entre 80 y 100 pg/ml.

No se han reportado interacciones farmacológicas. Únicamente se ha descrito la interacción con los alimentos, ya que la administración conjunta con ellos genera concentraciones plasmáticas superiores, y por lo tanto, el efecto puede ser mayor.

La dosis promedio utilizada es de 1.5 a 5 mg diariamente, por la tarde o al anochecer; sin embargo, se han utilizado dosis hasta de 20 a 30 mg diarios para corregir el sueño. Para restaurar el sueño en pacientes con cambio de horario, se recomienda la administración de 5 mg diariamente, de preferencia de 3 a 5 días previos al cambio de horario y hasta 3 días después de haberse recuperado. En el insomnio crónico se han utilizado hasta 75 mg/día. La dosis ansiolítica de la MEL es de 1-5 mg/Kg⁵². No se han reportado casos de sobredosis, su ingesta excesiva puede generar relativa somnolencia y una hipotermia clínicamente no significativa⁶².

Es importante caracterizar el efecto ansiolítico de la MEL porque ésta se encuentra en productos naturales que pueden ayudar a disminuir el costo del tratamiento ansiolítico poniéndolo al alcance de la población de clase media-baja. Además, de que no causa dependencia física ni psicológica.

Dentro de los productos naturales en los que se encuentra MEL están: hierba de San Juan o hipérico, utilizada en el tratamiento de depresión, como antiinflamatorio, desinfectante y analgésico contiene 11.7 ng de MEL; la planta Aquilea contiene 45.4 ng/g de MEL además de ser digestiva; la menta contiene 19.3 ng de MEL; Hierba Luisa utilizada para combatir la ansiedad contiene 22.3 ng de MEL; Tomillo estimulante natural, antiséptico y condimento contiene 26 ng de MEL; la Savila que combate molestias de menopausia y que es utilizada como estimulante del SN contiene 32.8 ng de MEL. También se ha reportado que la MEL se encuentra en verduras, maíz, avena, arroz, cebollas, plátanos y algunas plantas aromáticas.⁶²

2. RELAJACIÓN MUSCULAR

2.1 DEFINICIÓN DE MÚSCULO

Los músculos son la parte activa del aparato locomotor, es decir, son los que permiten que el esqueleto se mueva y que mantenga su estabilidad tanto en movimiento como en reposo. Los músculos contribuyen también a dar la forma externa del cuerpo humano^{30, 45, 68}.

2.2 CLASIFICACIÓN DE MÚSCULOS

Los músculos del organismo se dividen en voluntarios e involuntarios. Los músculos voluntarios también se llaman esqueléticos o estriados (salvo el esfínter anal) y son los que se contraen en forma potente, rápida y brusca, si así se precisa, son músculos de acción rápida. Los músculos involuntarios o lisos (salvo el corazón) son regidos por el SNA y el individuo no tiene ningún control voluntario sobre ellos, constituyen las paredes de las vísceras, del aparato respiratorio y circulatorio, estos músculos poseen contracción y relajación lentas^{30, 45, 68}.

2.3 FUNCIÓN MUSCULAR

Los músculos esqueléticos,^{30, 45, 68} debido a su capacidad de contracción, hacen posible que el esqueleto se mueva como una unidad global (locomoción), así como de sus partes. Así, las extremidades pueden realizar movimientos de flexión o extensión, de rotación, de aproximación (aducción) o al contrario (abducción). La mayor parte de los músculos están provistos de tendones, mediante los cuales suelen insertarse sobre los huesos. Según el tipo de inserción, es decir, si lo hacen mediante más de un extremo o cabeza, se dividen en bíceps (dos cabezas), tríceps (tres cabezas) y cuádriceps (cuatro cabezas). Dependiendo de si están formados por más de un cuerpo muscular, se dividen en digástricos y poligástricos (dos o más cuerpos, respectivamente). Si toman su inserción terminal por más de un extremo o cola, los músculos

serán bicaudales, tricaudales o policaudales, según lo hagan por dos, tres o más extremos. Las contracciones de los músculos esqueléticos constituyen una de las partes más importantes del mecanismo para conservar la homeostasia de la temperatura corporal (FIG. 10).

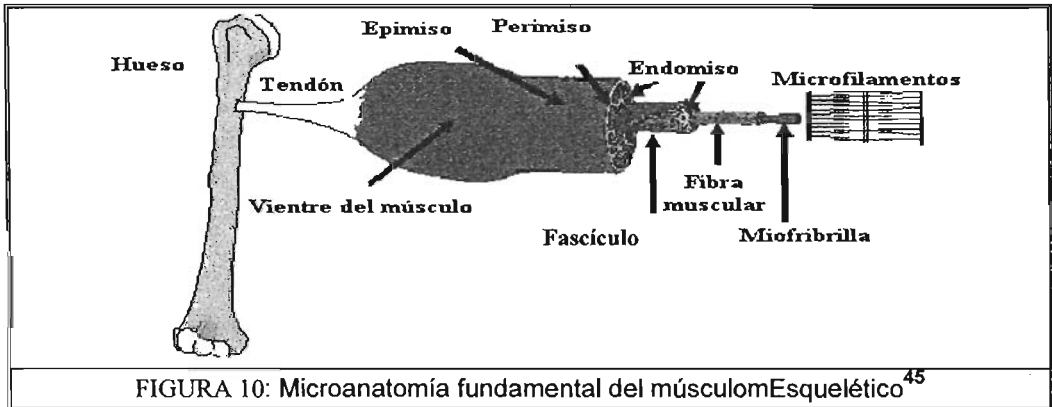


FIGURA 10: Microanatomía fundamental del músculo esquelético⁴⁵

2.4 RELAJACIÓN MUSCULAR

La tensión muscular es uno de los componentes de la ansiedad. Se trata de un mecanismo generalmente automático e involuntario, pero que podemos aprender a controlar voluntariamente, igual que la respiración o los pensamientos. El efecto contrario a la tensión muscular es la relajación muscular (FIG. 11).



FIGURA. 11. En la ansiedad generalmente se presenta tensión muscular.

La tensión y la relajación muscular son estados del organismo que corresponden al SNA. Cuando estamos nerviosos, asustados, enojados, etc., nos hallamos bajo el control del SNS, su

activación implica una serie de cambios fisiológicos entre los que se incluye la tensión muscular. Por el contrario, la relajación muscular se produce por acción del SNP, su activación hace que la tasa cardíaca se reduzca, la respiración sea más lenta, disminuya la tensión muscular y se produzca una sensación de relajación, o incluso de pesadez muscular^{30, 45, 68}.

Como la tensión muscular forma parte de la reacción de ansiedad, y la relajación muscular forma parte del efecto ansiolítico, podemos “cambiar” la tensión muscular por la relajación muscular.

Los medicamentos que modifican la función del músculo esquelético caen dentro de dos grupos terapéuticos: aquellos utilizados durante los procedimientos quirúrgicos y en las unidades de cuidados intensivos para producir parálisis (bloqueadores neuromusculares) y aquellos usados para reducir la espasticidad en una diversidad de afecciones neurológicas (esasmolíticas)⁴⁰. Los bloqueadores neuromusculares interfieren con la transmisión en la placa terminal neuromuscular y no son activos sobre el SNC. Los miembros del segundo grupo, se les ha denominado relajantes musculares de “acción central”, sin embargo, al menos uno de sus miembros importantes (dantroleno) no tiene efectos centrales, de modo que este nombre en la actualidad, resulta inadecuado, dentro de este grupo se encuentra el DIAZ⁴⁰.

2.5 MODELOS EXPERIMENTALES PARA EVALUAR LA COORDINACIÓN MOTORA.

El modelo de Rota-Rod para ratas fue creado por N. W. Dunham y T. S. Miya (1957)²⁷, es básicamente una competencia de balanceo que crea un conflicto de miedo visual del acantilado

en roedores que permite evaluar fármacos potencialmente activos en la coordinación motora o en la resistencia al cansancio (FIG 12).

El Rota-Rod tiene diversas ventajas comparado con otros modelos, además de ser sencillo, es rápido y está basado en cuantificar el comportamiento espontáneo de los roedores sin tener algún estímulo que pueda representar un condicionamiento. Otra ventaja del Rota-Rod es la posibilidad de evaluar cuatro roedores al mismo tiempo^{27, 51, 64}.

El efecto sobre la coordinación en este modelo se mide según el número de caídas del roedor. Así a un mayor número de caídas del rotor en movimiento por el roedor se presenta menor coordinación motora o mayor efecto relajante muscular.^{11, 58, 59} Otros modelos para evaluar la coordinación motora son:

- ◆ Las cajas de actividad motora.
- ◆ Conducta de giro.
- ◆ Modelo de la escalera. Empleado para evaluar movimientos finos en la rata.
- ◆ Cuerda tirante.
- ◆ Plano inclinado.

III. JUSTIFICACIÓN

Las razones por las que es necesario hacer este estudio son:

1. Que la ansiedad es una enfermedad a nivel mundial con alta prevalencia y graves consecuencias, además, se desconoce su exacta etiología.
2. Que los modelos de experimentación animal son aversivos y poco concordantes con las situaciones que producen ansiedad en el ser humano¹⁵.
3. Que los ansiolíticos existentes son de uso prolongado y tienen efectos colaterales tolerancia y dependencia como en el caso de las BZP.
4. Que los fármacos que no producen los efectos colaterales de las BZP, como la BUS tienen un costo relativamente elevado.

Con base a esto, se estudian estos fármacos para comparar su efecto con la MEL, que es una sustancia que carece de los efectos colaterales de las BZP, además, existen estudios reportados con respecto al efecto ansiolítico de la misma que nos reforzarán la hipótesis del efecto ansiolítico de la MEL. Otra razón es el hecho de que se desconoce su mecanismo de acción; y debido a que se ha planteado que puede ser mediado por receptores GABA, serotoninérgicos o por ambos, se estudia comparativamente con fármacos prototipos cuyo mecanismo de acción es conocido.

De esta manera el efecto ansiolítico de la MEL, BUS, DIAZ, FLU y FLUO se evalúa en los modelos Rota-Rod y del Escondrijo que se basan en comportamientos conductuales de los roedores y en situaciones ansiosas controladas. El efecto sobre la coordinación motora de MEL, BUS, DIAZ, FLU y FLUO se evalúa en el modelo Rota-Rod, comparando sus efectos con el sistema GABAérgico (DIAZ-FLU) y el sistema serotoninérgico (BUS-FLUO).

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Determinar el efecto ansiolítico de la MEL, DIAZ, BUS y FLUO por administración i. p., así como del FLU por vía i. v. utilizando el modelo Rota-Rod y del Escondrijo. Además de determinar el efecto sobre la coordinación motora (relajante muscular) de los mismos fármacos.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- Evaluar el efecto ansiolítico de MEL, DIAZ, BUS y FLUO (i. p.) así como FLU (i. v.) con el modelo Rota-Rod para ratas y del Escondrijo para ratones.
- Evaluar el efecto sobre la coordinación motora de MEL, DIAZ, BUS, FLUO (i. p.) y FLU (i. v.) con el modelo Rota-Rod para ratas.
- Determinar si la MEL produce efecto ansiolítico.
- Dilucidar el mecanismo de acción, por el cual la MEL produce los efectos ansiolíticos y sobre la coordinación motora, comparando sus efectos con los sistemas GABAérgico (DIAZ-FLU) y serotoninérgico (BUS-FLUO).

V. HIPÓTESIS

- Sí el efecto ansiolítico de MEL, DIAZ y BUS, se caracterizó en los modelos de situación conflicto y Plus Maze, entonces en el modelo de Rota-Rod para ratas y del Escondrijo en ratones esperamos encontrar el mismo efecto con las mismas sustancias.
- Sí el DIAZ produce los efectos ansiolítico y de relajación muscular (efecto sobre la coordinación motora), entonces la MEL producirá un efecto similar en músculo esquelético y sobre la ansiedad.
- Sí la BUS produce el efecto ansiolítico y no produce relajación muscular (efecto sobre la coordinación motora), entonces la MEL producirá un efecto similar en músculo esquelético y en la ansiedad.
- Sí se conoce el mecanismo de acción del FLU como antagonista para DIAZ, entonces la MEL podría tener un mecanismo similar de acción.
- Sí se conoce el mecanismo de acción de la FLUO como inhibidor de la recaptura de 5-HT para BUS, entonces la MEL podría tener un mecanismo similar de acción.

VI. METODOLOGÍA

1. MATERIAL BIOLÓGICO

Este trabajo se realizó en dos partes. En la primera parte del estudio se utilizaron 36 Ratas Wistar Macho (Harlan, México S. A. de C. V. Con carta de bioética) de peso 175-230 g sin haber sido sometidas anteriormente a experimentación, distribuidas en 6 grupos de la siguiente manera:

Reactivo	Dosis	No. rata
MEL1	1 mg/kg	6
MEL2	2 mg/kg	6
DIAZ (Control +)	2 mg/kg	6
BUS (Control +)	5 mg/Kg	6
VEHIC (PEG)	25%	6
INT (integras)	-----	6
Total	-----	36

En la segunda parte del estudio se utilizaron 40 Ratas Wistar Macho (Harlan, México S. A. de C. V. Con carta de bioética) de peso 175-230 g sin haber sido sometidas anteriormente a experimentación, distribuidas en 10 grupos para el modelo Rota-Rod, distribuidos de la siguiente manera:

Reactivo	Dosis	No. rata
INT	-----	4
VEHIC (PEG)	25%	4
VEHIC + FLU	25% + 0.1 mg/kg	4
DIAZ (Control +) + FLU	2 mg/kg + 0.1 mg/kg	4
MEL1 + FLU	1 mg/kg + 0.1 mg/kg	4
MEL2 + FLU	2 mg/kg + 0.1 mg/kg	4
VEHIC+ FLUO	25% + 1 mg/kg	4
BUS (Control +) + FLUO	5 mg/Kg + 1 mg/kg	4
MEL1 + FLUO	1 mg/kg + 1 mg/kg	4
MEL2 + FLUO	2 mg/kg + 1 mg/kg	4
Total	-----	40

Se utilizaron 60 Ratonos Cepa ICR Macho (Harlan, México S. A. de C. V. Con carta de bioética) de peso 25-30 g sin haber sido sometidos anteriormente a experimentación, distribuidas en 10 grupos para el modelo del Escondrijo, distribuidos de la misma forma que para el modelo Rota-Rod.

Los roedores se mantuvieron durante el desarrollo experimental en cajas de borosilicato transparente de dimensiones 35 x 35 x 25 cm y tapa de rejilla de acero inoxidable, tuvieron acceso libre de agua y alimento (Purina Rat Chow), y a condiciones ambientales de luz (14 luz /10 oscuridad) y temperatura (18-22°C). El modelo de Rota-Rod se empleo en verano y el modelo del Escondrijo se empleo en otoño.

2. EQUIPO

- * Balanza granataría. Básculas fina casa Valles S. A.
- * Balanza analítica. Mettler Toledo AG 204.
- * Lámpara.
- * Caja inmovilizante.
- * Rotarod Jones @ Roberts para ratas. Modelo 7750 (Ugo Basile).

El modelo Rota-Rod empleado consiste en 4 tambores de 7 cm de diámetro, y un rotor de velocidad variable, ambos son separados por seis discos por lo que se pueden evaluar 4 ratas al mismo tiempo. Debajo de cada tambor hay una placa que interrumpe un cronómetro, cuando la rata cae del rotor en movimiento, el tiempo registrado por este cronómetro se muestra en el tablero de cristal líquido correspondiente a la placa y es el tiempo de permanencia de la rata en el rotor en segundos^{27, 58} (FIG. 12).

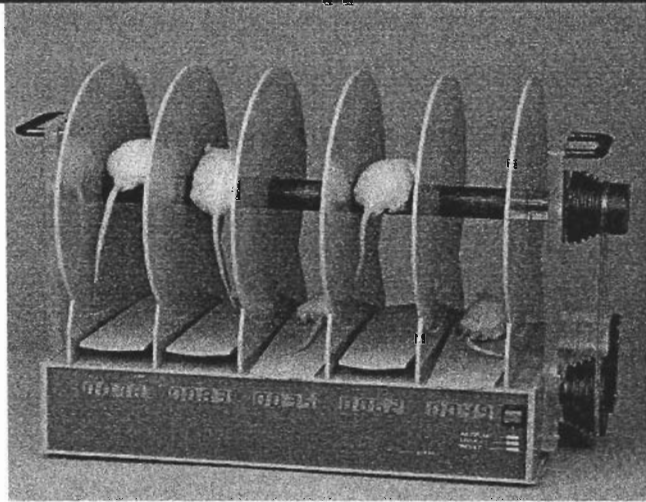


FIGURA. 12. Modelo de Rota-Rod para ratas utilizado en la parte experimental.

3. MATERIAL DE CURACIÓN

- * 122 jeringas de 1ml
- * Guantes de látex
- * Torundas de algodón
- * Jabón neutro (Grisi)
- * Cepillo para uñas

4. MATERIAL DE VIDRIO

- * 1 pipeta graduada de 1ml
- * 1 vaso de precipitados de 50 ml
- * Vidrio de reloj
- * Esferas de vidrio de 1.5 cm de diámetro

5. MATERIAL DE LABORATORIO

- * 1 espátula plomo-níquel
- * 1 propipeta
- * Papel aluminio
- * Cajas de borosilicato de 35 X 35 X 25 cm con tapa

6. REACTIVOS

- * Diazepam, solución inyectable de 10 mg, ampolleta con 2 ml, conservar a no más de 30°C. Lab. Roche. Lote: RJ0017.
- * Buspirona, frasco con 1 g, conservar a una temperatura de 2-8°C. Lab. Sigma Chemical Co. Lote:91H0802
- * Melatonina, frasco con 10 g, sensible a la luz, conservar a 0°C. Lab. Sigma Chemical Co. Lote: 125H1141. Preparada a 1mg/ml.
- * Solución de propilenglicol 200 (PEG 200) al 25% (J. T. Baker).
- * Lanexat ® Flumazenil, sol inyectable de 0.5 mg, ampolleta con 5 ml, conservar a no más de 30°C. Lab. Roche Lote:B20251
- * Fluoxetina frasco con 10 mg, sensible a la luz. Lab. Sigma Chemical Co. Lote:072K0789 Preparada a 1mg/ml.

Nota: Revisar dosis correspondientes en material biológico.

7. PROCEDIMIENTO

En la primera parte del estudio se separaron las 36 ratas macho Wistar aleatoriamente en 6 grupos, con una n=6 cada uno. Los tratamientos de cada grupo son:

- ◆ ÍNT: Grupo control ratas ÍNTEGRAS.
- ◆ VEHÍC: Grupo control de ratas a las que se les administró PEG al 25% como vehículo.
- ◆ DIAZ: Grupo control positivo (benzodiazepínico) de ratas a las que se les administró DIAZ a una dosis de 2 mg/Kg.
- ◆ BUS: Grupo control positivo (serotoninérgico) ratas a las que se les administró BUS a una dosis de 5 mg/Kg.
- ◆ MEL1: Grupo de ratas a las que se les administró MEL a una dosis de 1 mg/Kg

- ◆ MEL2: Grupo de ratas a las que se les administró MEL a una dosis de 2 mg/Kg.

La metodología seguida consistió en:

- i. Separar y marcar las ratas para cada uno de los grupos: ÍNT, VEHÍC, DIAZ, BUS, MEL1 y MEL2.
- ii. Administrar por vía i. p. el reactivo correspondiente a cada grupo (menos a las ÍNT) entre las 12:00 y 18:00 p. m., debido a que en ese horario la secreción de MEL es mínima. Esperar 25 min. en lo que se obtiene el efecto de los reactivos.
- iii. Colocar cada rata 5 min. en una caja de borosilicato con una cama de aserrín de 4 cm para observar si hay o no presencia de micción, mordisqueo y piloerección, así como cuantificar el número de bolos fecales y la frecuencia respiratoria.
- iv. Limpiar antes y después de utilizar cada compartimiento del Rota-Rod con solución de jabón neutro y agua. Secar. Esto es para que no existan olores que produzcan ansiedad a los roedores.
- v. Una vez encendido el rotor en modo RESET (30 rpm) se colocan las ratas, una por una, en cada compartimiento, al mismo tiempo se pone en cero la placa respectiva, la cual se observa en el tablero de cristal líquido.
- vi. Durante 10 min. se anota el tiempo (seg) de permanencia de la rata en el rotor en movimiento, el número de caídas, el número de bolos fecales y la frecuencia respiratoria, así como si hay o no presencia de micción, mordisqueo y piloerección.
- vii. Recopilar los datos en tablas y realizar la bioestadística descriptiva e inferencial. No realizar análisis estadístico inferencial para la presencia o ausencia de micción, mordisqueo y piloerección, ya que se consideró como 100% que todas las ratas presentaron al menos una vez los efectos y 0% si ninguna rata presentó los efectos.

Esta primera parte del estudio se realizó para determinar si las sustancias utilizadas presentaban los efectos ansiolítico y sobre la coordinación motora en el modelo Rota-Rod.

En la segunda parte del estudio se utilizaron 40 ratas macho Wistar (Harlan, México S. A. de C. V. Con carta de bioética) de peso 175-230 g, las cuales fueron separadas de manera aleatoria en 10 grupos, con una $n = 4$ cada uno; para el modelo Rota-Rod. En esta parte se empleó una $n=4$ debido a que en la primera parte ya se determinaron los efectos ansiolíticos y sobre la coordinación motora, además sigue siendo un tamaño de muestra significativo y al reducir la n no se sacrifican roedores sin justificación.

Los grupos fueron tratados como a continuación se describe:

- ◆ ÍNT: Grupo control ratas íntegras.
- ◆ VEHÍC: Grupo control de ratas a las que se les administró PEG al 25% como vehículo.
- ◆ VEHÍC + FLU: Grupo control de ratas a las que se les administró PEG al 25% como vehículo más FLU a una dosis de 0.1 mg/Kg.
- ◆ DIAZ + FLU: Grupo control positivo (benzodiazepínico) de ratas a las que se les administró DIAZ a una dosis de 2 mg/Kg más FLU a una dosis de 0.1 mg/Kg.
- ◆ MEL1 + FLU: Grupo de ratas a las que se les administró MEL a una dosis de 1 mg/Kg más FLU a una dosis de 0.1 mg/Kg.
- ◆ MEL2 + FLU: Grupo de ratas a las que se les administró MEL a una dosis de 2 mg/Kg más FLU a una dosis de 0.1 mg/Kg.
- ◆ VEHÍC + FLUO: Grupo control de ratas a las que se les administró PEG al 25% como vehículo más FLUO a una dosis de 1 mg/Kg.
- ◆ BUS + FLUO: Grupo control positivo (serotoninérgico) ratas administradas BUS a una dosis de 5 mg/Kg más FLUO a una dosis de 1 mg/Kg.

- ◆ MEL1 + FLUO: Grupo de ratas a las que se les administró MEL a una dosis de 1mg/Kg más FLUO a una dosis de 1mg/Kg.
- ◆ MEL2 + FLUO: Grupo de ratas a las que se les administró MEL a una dosis de 2 mg/Kg más FLUO a una dosis de 1 mg/Kg.

En los grupos de interacción, en los cuales se administrarán dos fármacos, primero se administra la MEL o BUS, 40 min después el siguiente fármaco.

La metodología empleada con estos 10 grupos fue la misma que para la primera parte del estudio, sin embargo al término de ésta se administró: FLU (i. v.) o FLUO (i. p.), se espero 1 min. en lo que se presenta el efecto de la sustancia y se vuelve a efectuar la metodología desde el paso iii.

En esta segunda parte también se utilizó el modelo del Escondrijo para caracterizar el efecto ansiolítico de las sustancias. Para este modelo se utilizaron 60 ratones macho Cepa ICR, y se distribuyeron aleatoriamente en 10 grupos con una n=6. Estos grupos fueron tratados de la misma forma que en el modelo Rota-Rod, sin embargo, la metodología empleada fue la siguiente:

- ◆ Separar y marcar 6 ratones para cada uno de los grupos.
- ◆ Administrar por vía i. p. el reactivo correspondiente a cada grupo (menos a las ÍNT) entre las 12:00 y 18:00 p. m, debido a que en este horario la secreción de MEL es mínima. Esperar 25 min. para el efecto de los reactivos.
- ◆ Colocar cada ratón 15 min. en una caja de borosilicato con una cama de aserrín comprimido suavemente (4 cm) y 20 esferas de vidrio esparcidas.
- ◆ Cuantificar el número de esferas cubiertas totalmente.
- ◆ Administrar el antagonista respectivo. Esperar 1 min. Repetir la metodología desde la colocación de cada ratón por 15 min. en la caja de borosilicato.

-
- ◆ Recopilar datos en tablas y realizar bioestadística descriptiva e inferencial.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante una ANDEVA y la prueba estadística de “t de Student” correlacionada e independiente, con una probabilidad de $p < 0.05$ (bioestadística inferencial), y el error estándar de la media (ESM); además, con los promedios se realizaron las gráficas presentadas (bioestadística descriptiva).⁴⁷

VII. RESULTADOS

Los resultados obtenidos corresponden a ambos experimentos con los dos modelos utilizados (Rota-Rod y Escondrijo).

La tabla No. 1 y en las gráficas Nos. 1, 2, 3, 4 y 5 se muestran los resultados promedio ($\bar{x} \pm \text{ESM}$) obtenidos del comportamiento de las ratas durante 10 min. en el modelo Rota-Rod después de la administración i. p. de las diferentes sustancias para los diferentes tratamientos en la primera parte del estudio.

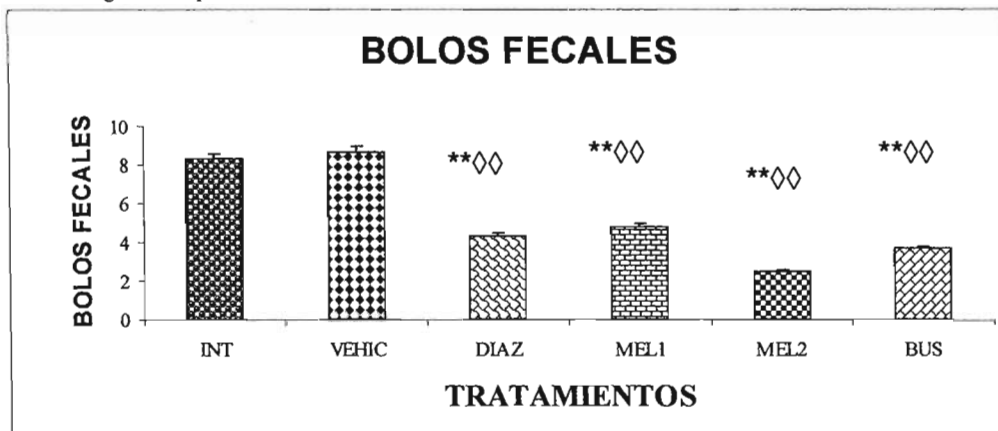
Tabla No. 1. Resultados promedio de los parámetros ansiolíticos (Rota-Rod)

Tratamiento	\bar{x} No. bolos fecales	\bar{x} % Micción	\bar{x} Frecuencia respiratoria (ciclos/min)	\bar{x} % Piloerección	\bar{x} % Mordisqueo
ÍNT	8.3 ±0.5	100	129.8 ±20.0	100	100
VEHIC	8.6 ±0.5	100	121.3 ±4.5	100	100
DIAZ	4.3 ±0.8	0	68.2 ±2.0	0	0
BUS	3.6 ±0.5	33.3	68.3 ±2.2	16.7	16.7
MEL1	4.3 ±0.8	0	67.8 ±1.4	33.3	33.3
MEL2	2.5 ±1.0	0	67.3 ±2.4	0	0

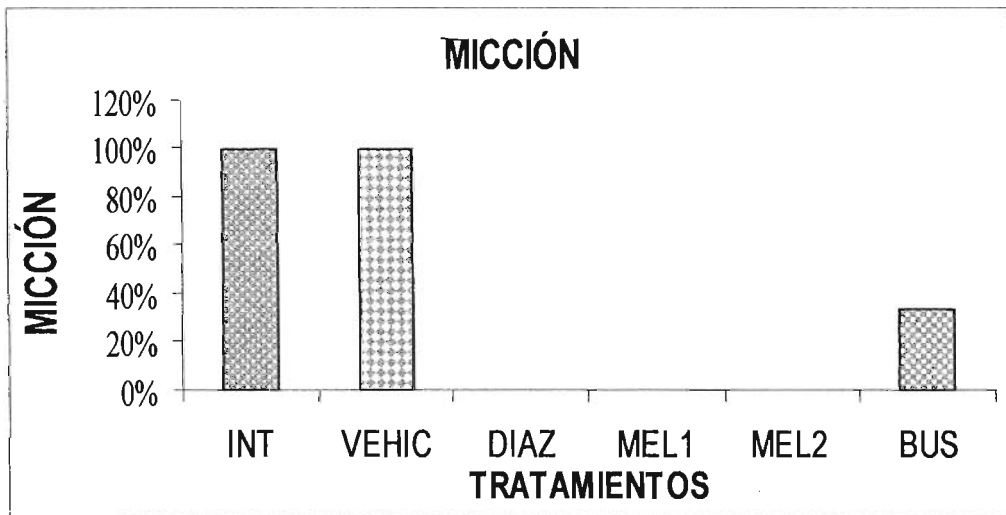
ÍNT= íntegro, VEHÍC=vehículo, DIAZ=diazepam, BUS=buspirona, MEL1=melatonina1, MEL2=melatonina2

100% = Todas las ratas presentaron los efectos al menos una vez.

0% = Ninguna rata presentó los efectos.

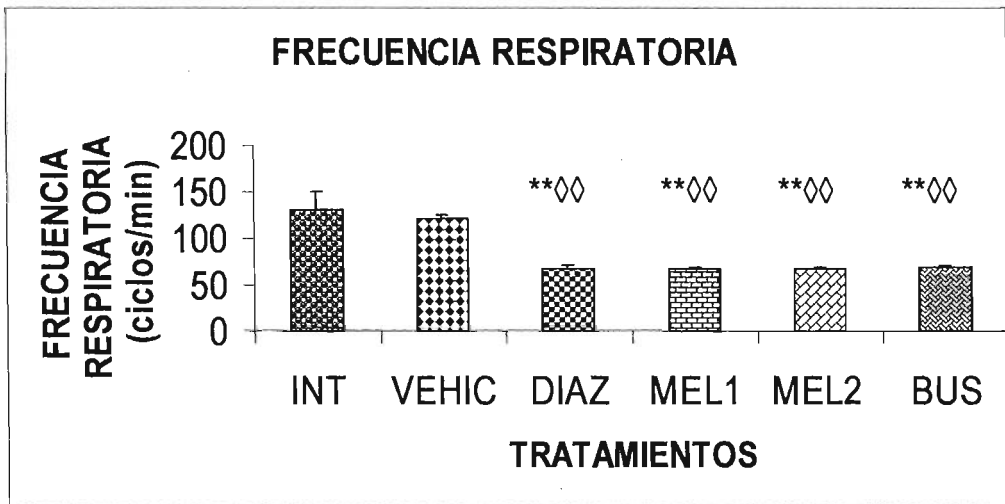


Gráfica No. 1. Se muestran los resultados obtenidos para el número de bolos fecales $\bar{x} \pm \text{ESM}$ de los diferentes tratamientos (n =6), se observan diferencias significativas para MEL1, BUS, DIAZ y MEL2 (**,∅= p<0.05) con "t de Student", en comparación con los tratamientos de VEHÍC e ÍNT.



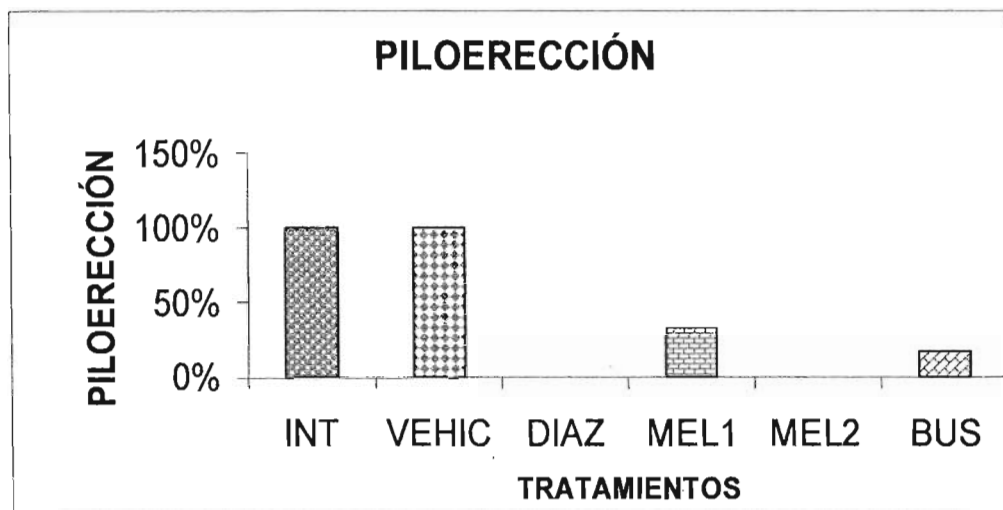
\bar{x} = promedio

Gráfica No. 2. Se muestra el % \bar{x} del efecto de micción en todos los tratamientos (n=6), en los grupos controles las ratas presentan este efecto de micción (100%) comparados con los grupos tratados (0%) a excepción de BUS (33.333%).



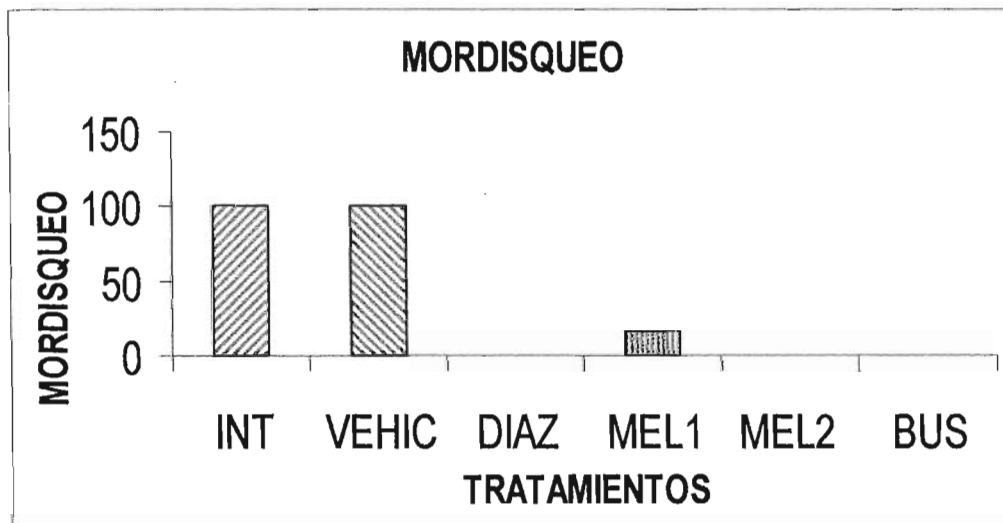
\bar{x} = promedio

Gráfica No. 3. En esta gráfica se muestran los resultados obtenidos para el efecto sobre la frecuencia respiratoria (ciclos/min.) $\bar{x} \pm \text{ESM}$ de los diferentes tratamientos (n =6), se presentan diferencias significativas con MEL1, BUS, DIAZ y MEL2 (**, 00= p<0.05) con “t de Student”, en comparación con los controles.



\bar{x} = promedio

Gráfica No. 4. Se muestra el % \bar{x} del efecto de piloerección en todos los tratamientos (n=6), se observa que en los grupos controles las ratas presentan este efecto de piloerección (100%) comparados con los grupos tratados (0%) a excepción de BUS (16.66%) y MEL1 (33.33%).



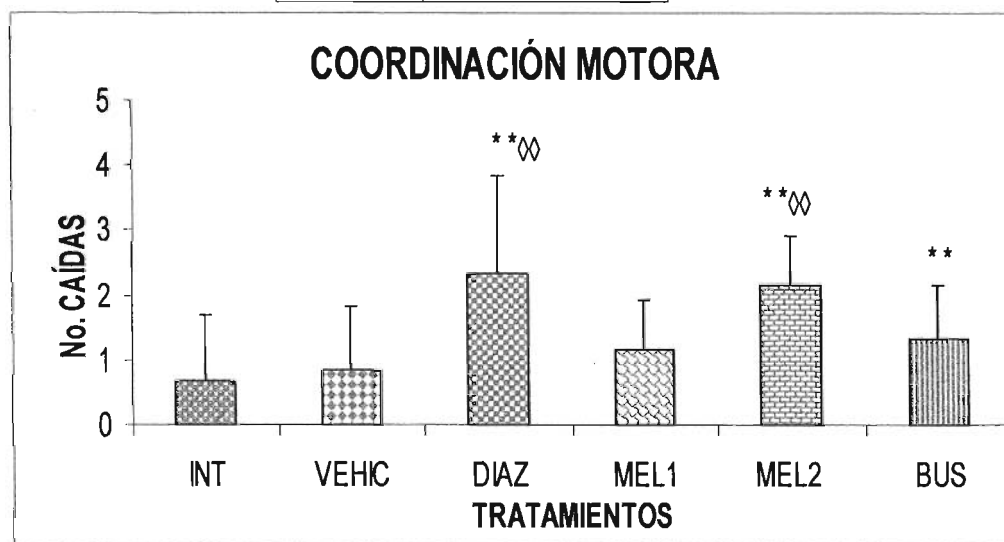
\bar{x} = promedio

Gráfica No. 5. En esta gráfica se muestra el % \bar{x} del efecto de mordisqueo en todos los tratamientos (n=6), se observa que en los tratamientos controles las ratas presentan este efecto de piloerección (100%) comparados con los grupos tratados (0%) a excepción de MEL1 (16.66%).

En la tabla No. 2 y gráfica No. 6 se muestran los resultados para los parámetros sobre la coordinación motora• (Rota-Rod).

Tabla No. 2. Resultados promedio de los parámetros sobre la coordinación motora (Rota-Rod)

Tratamiento	\bar{x} •No. caídas
INT	0.6 ± 1.0
VEHIC	0.8 ± 0.9
DIAZ	2.3 ± 1.5
BUS	1.3 ± 0.8
MEL1	1.2 ± 0.7
MEL2	2.2 ± 0.7



\bar{x} = promedio

Gráfica No. 6. Se muestran los resultados obtenidos para el efecto sobre la coordinación motora, en ratas con los diferentes tratamientos (n = 6). Se observan diferencias significativas con BUS (*,∅= p<0.10), DIAZ y MEL2 (**,∅∅= p<0.05) con “t de Student”, al ser comparados con los controles.

Se realizó el análisis bioestadístico inferencial de los datos obtenidos en ambos experimentos. En esta primera parte del estudio se realizó un análisis de varianza (ANDEVA)⁴⁷ que nos permitió saber si hay diferencia entre los diferentes tratamientos (todos vs todos); y una

prueba “t de Student”⁴⁷, con una probabilidad de $p < 0.05$ o de $p < 0.10$, la cual nos indica si hay diferencias significativas entre los grupos.

En las tablas Nos. 3, 4, y 5 se muestran los ANDEVAS para los efectos ansiolítico y sobre la coordinación motora de la primera parte del estudio.

Tabla No. 3. ANDEVA para el efecto de defecación (Rota-Rod)⁴⁷.

Fuente de variación	g. l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F _{obtenida}	F _{teórica}
Tratamientos	5	197.5	98.7	183.2	F _{0.95,5,30} =2.5
Error	30	16.2			
Total	35	213.6	0.5		

Existe una diferencia significativa al 5% entre los tratamientos de las ratas ÍNT, VEHÍC, DIAZ, BUS, MEL1 y MEL2.

Tabla No. 4. ANDEVA para el efecto de frecuencia respiratoria (Rota-Rod)⁴⁷.

Fuente de variación	g. l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F _{obtenida}	F _{teórica}
Tratamientos	5	26709.2	13354.6	181.0	F _{0.95,5,30} =2.5
Error	30	2213			
Total	35	28922.2	73.7		

Existe una diferencia significativa al 5% entre los tratamientos de las ratas ÍNT, VEHÍC, DIAZ, BUS, MEL1 y MEL2.

Tabla No. 5. ANDEVA para el efecto sobre la coordinación motora (Rota-Rod)⁴⁷.

Fuente de variación	g. l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F _{obtenida}	F _{teórica}
Tratamientos	5	78	34	38.4	F _{0.95,5,30} = 2.5
Error	30	30.5			
Total	35	47.7	1.0166		

Existe una diferencia significativa al 5% entre los tratamientos de las ratas ÍNT, VEHÍC, DIAZ, BUS, MEL1 y MEL2.

Una vez realizada la prueba de ANDEVA se realizó la prueba “t de Student”, para analizar los efectos de ansiedad y sobre la coordinación motora, los resultados obtenidos se muestran en las gráficas correspondientes.

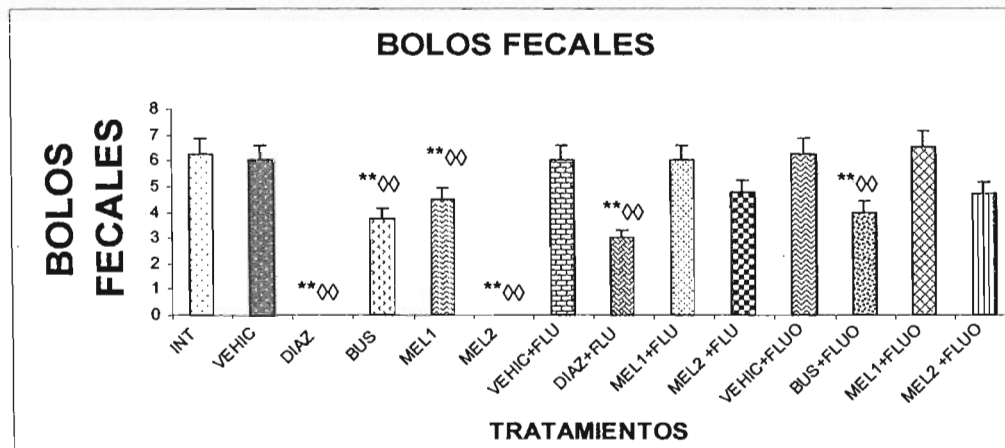
En la segunda parte del estudio se evaluaron los mismos parámetros y a continuación se muestran los resultados obtenidos (Tabla No. 6 y gráficas Nos. 7, 8, 9, 10 y 11).

Tabla No. 6. Resultados promedio de los parámetros ansiolíticos⁴⁷

Tratamiento	\bar{x} No. bolos fecales	\bar{x} %Micción	\bar{x} Frecuencia respiratoria (ciclos/min)	\bar{x} %Piloerección	\bar{x} %Mordisqueo
INT	6.2±1	100	127±5	100	100
VEHÍC	6±0	100	126±4	100	100
DIAZ	0	0	87±2	0	0
BUS	3.7±0.5	0	69±2.4	0	0
MEL1	4.5±1	75	83.5±3	100	0
MEL2	0	0	67.7±2	0	0
VEHÍC+ FLU	6±1	100	124±0	100	100
DIAZ+ FLU	3±1	50	122.5±4	100	50
MEL1+ FLU	6±1	100	105.5±1	100	100
MEL2 + FLU	4.7±1	75	122.25±2	100	100
VEHÍC+FLUO	6.2±1	100	124±2	100	100
BUS+ FLU0	4±0	0	68.5±1.7	0	25
MEL1+ FLUO	6.5±1	100	105±0	100	100
MEL2 +FLUO	4.7±1	75	122±1	100	100

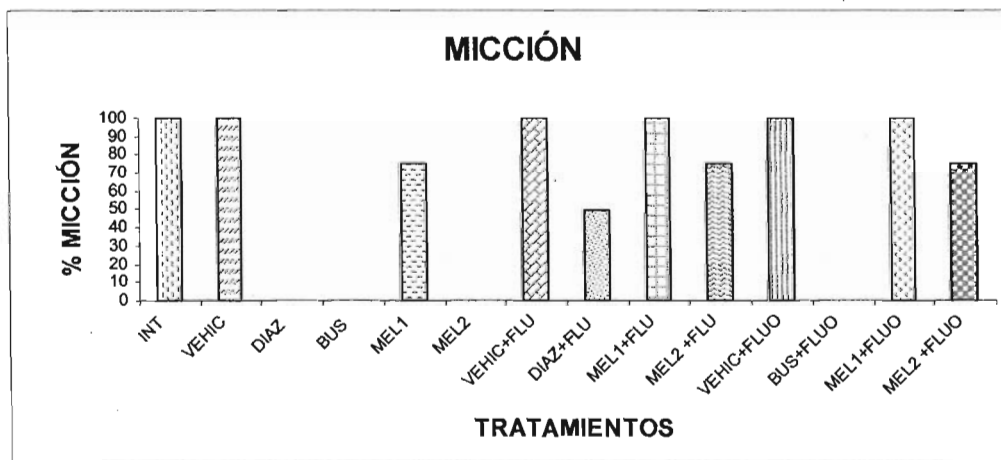
100% = Todas las ratas presentaron los parámetros al menos una vez.

0% = Ninguna rata presentó los parámetros.



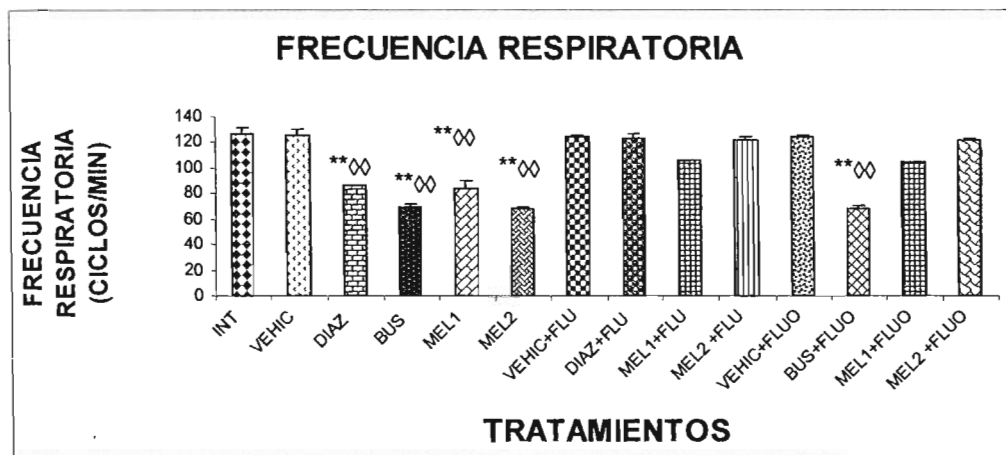
\bar{x} = promedio

Gráfica No. 7. Se muestran los $\bar{x} \pm$ ESM del número de bolos fecales, cuando comparamos las barras de los grupos controles contra las de los grupos tratados (n =4). Las diferencias significativas son entre los grupos controles y DIAZ, BUS, MEL1 y MEL2 (**, $\diamond = p < 0.05$) con "t de Student", también, cuando comparamos las interacciones contra los mismos grupos, no así cuando se realizan contra los controles, a excepción de DIAZ+FLU y BUS+FLUO (*, $\diamond = p < 0.10$).



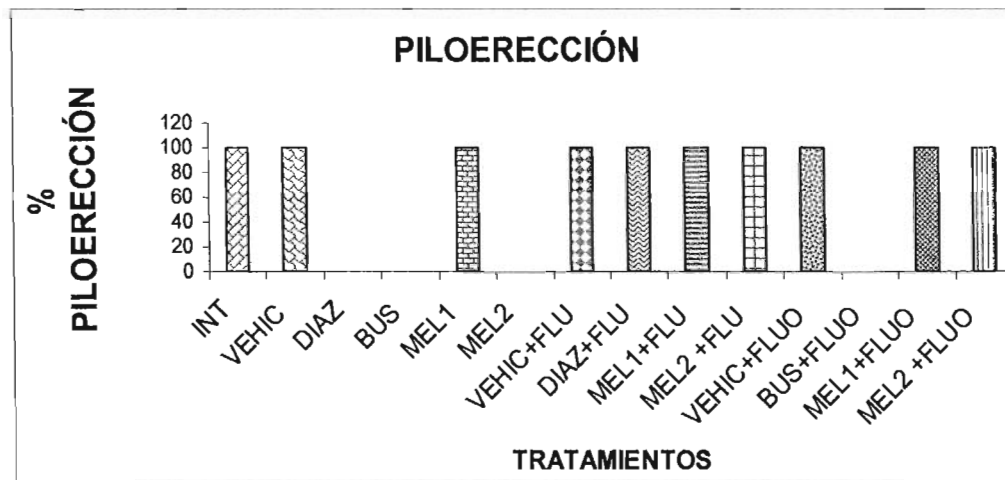
\bar{x} = promedio

Gráfica No. 8. Se muestran los \bar{x} del efecto de micción, cuando comparamos las barras de los grupos controles contra las de los grupos tratados (n =4). Las diferencias son entre los grupos controles y DIAZ, BUS, MEL1 y MEL, también, cuando comparamos las interacciones contra los mismos grupos, no así cuando se realizan contra los controles, a excepción de DIAZ+FLU, BUS+FLUO y MEL2+FLU.



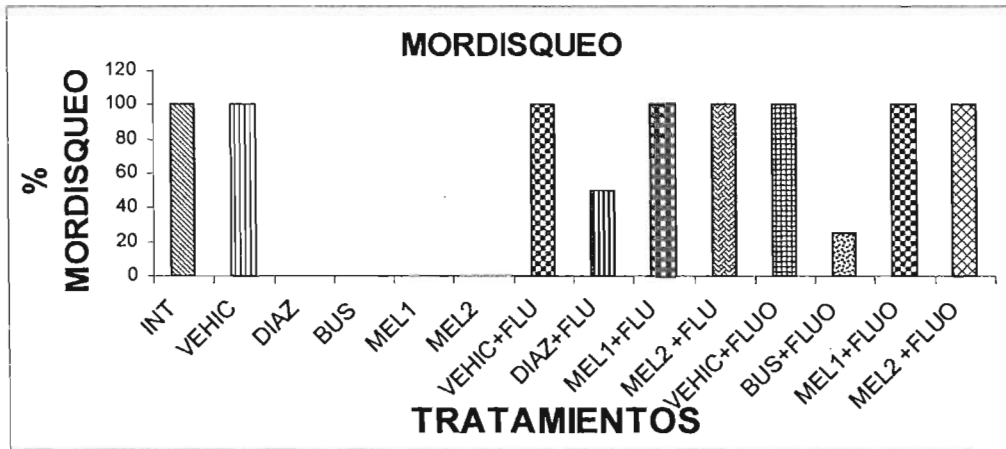
\bar{x} = promedio

Gráfica No. 9. Se muestran los \bar{x} del efecto de la frecuencia respiratoria (ciclos/min.), cuando comparamos las barras de los grupos controles contra las de los grupos tratados (n =4), las diferencias significativas (**, ∅∅ = p<0.05) con "t de Student", se observan entre los grupos controles y DIAZ, BUS, MEL1 y MEL2, también, cuando comparamos las interacciones contra los mismos grupos a excepción de BUS+FLUO, no así cuando se realizan contra los controles.



\bar{x} = promedio

Gráfica No. 10. Se muestran los % \bar{x} del efecto de la piloerección, cuando comparamos las barras de los grupos controles contra las de los grupos tratados (n =4), las diferencias se observan entre los grupos controles con DIAZ, BUS y MEL2, también, cuando comparamos las interacciones a excepción de BUS+FLUO contra los mismos grupos, no así cuando se realizan contra los controles.



\bar{x} = promedio

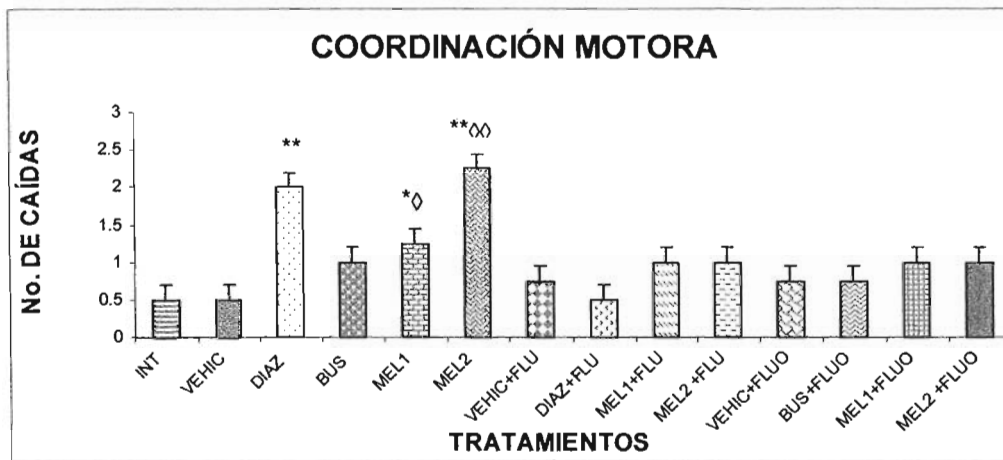
Gráfica No. 11. Se muestran los % \bar{x} del efecto de mordisqueo, cuando comparamos las barras de los grupos controles contra las de los grupos tratados (n=4), las diferencias se observan entre los grupos controles con DIAZ, BUS, MEL1 y MEL2, también, cuando comparamos las interacciones contra los mismos grupos, no así cuando se realizan contra los controles a excepción de DIAZ+FLU y BUS+FLUO.

En la tabla No. 7 y gráfica No. 12 se muestran los parámetros sobre la coordinación

motora.●

Tabla No. 7. Resultados promedio de los parámetros sobre la coordinación motora.

Tratamiento	\bar{x} ●No. caídas
INT	0.5 ± 1
VEHIC	0.5 ± 1
DIAZ	2 ± 1
BUS	1 ± 0.8
MEL1	1.2 ± 1
MEL2	2.2 ± 1
VEHIC+ FLU	0.7 ± 1
DIAZ+ FLU	0.5 ± 1
MEL1+ FLU	1 ± 1
MEL2 + FLU	1 ± 0
VEHIC+FLUO	0.7 ± 1
BUS+ FLU0	0.7 ± 1
MEL1+ FLUO	1 ± 1
MEL2 +FLUO	1 ± 0



\bar{x} = promedio

Gráfica No. 12. Se muestran los $\bar{x} \pm \text{ESM}$ del efecto sobre la coordinación motora, cuando comparamos las barras de los grupos controles contra las de los grupos tratados ($n = 4$), las diferencias se observan entre los grupos controles con DIAZ, MEL1 y MEL2, también, cuando comparamos las interacciones contra los mismos grupos, no así cuando se realizan contra los controles.

Una vez realizadas las tablas con los promedios de los resultados \pm ESM se realizó el ANDEVA de los mismos. En las tablas Nos. 8, 9 y 10 se muestran los ANDEVAS para los efectos ansiolítico y sobre la coordinación motora de la segunda parte del estudio.

Tabla No. 8. ANDEVA para el efecto de defecación (Rota-Rod)⁴⁷.

Fuente de variación	g. l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F _{obtenida}	F _{teórica} .
Tratamientos	13	240.7	120.3	2.7	F _{0.95,13,42} =1.9
Error	42	1891			
Total	55	-66.3	45.0		

Existe una diferencia significativa al 5% entre los tratamientos: INT, VEHÍC, DIAZ, BUS, MEL1, MEL2, VEHÍC+FLU, DIAZ+FLU, MEL1+FLU, MEL2+FLU, VEHÍC+FLUO, BUS+FLUO, MEL1+FLUO y MEL2+FLUO.

Tabla No. 9. ANDEVA para el efecto de frecuencia respiratoria (Rota-Rod)⁴⁷.

Fuente de variación	g. l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F _{obtenida}	F _{teórica}
Tratamientos	13	29295.3	14647.7	-54.9	F _{0.95,13,42} =1.9
Error	42	-11192.5			
Total	55	18102.8	-266.5		

Existe una diferencia significativa al 5% entre los tratamientos: INT, VEHÍC, DIAZ, BUS, MEL1, MEL2, VEHÍC+FLU, DIAZ+FLU, MEL1+FLU, MEL2+FLU, VEHÍC+FLUO, BUS+FLUO, MEL1+FLUO y MEL2+FLUO.

Tabla No. 10. ANDEVA para el efecto sobre la coordinación motora (Roat-Rod)⁴⁷.

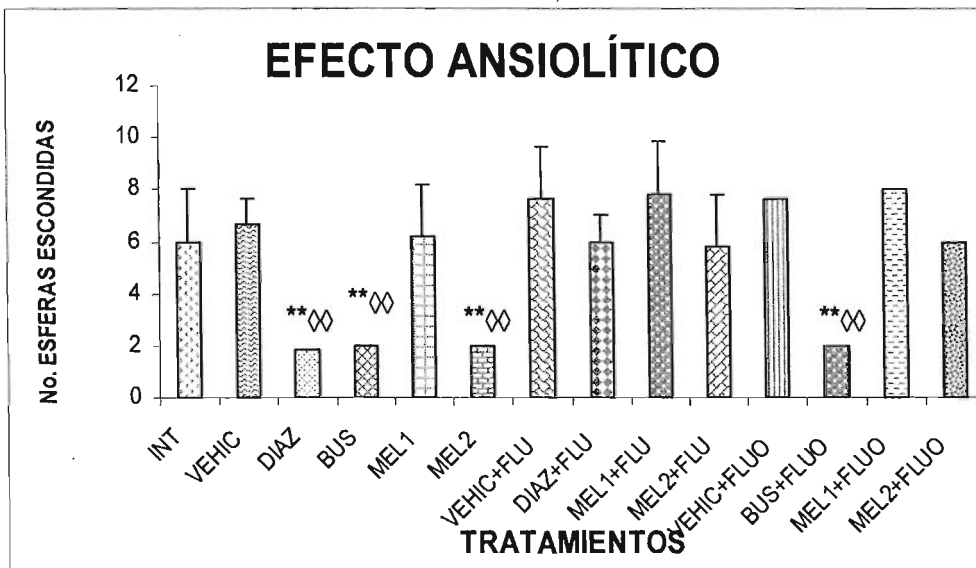
Fuente de variación	g. l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F _{obtenida}	F _{teórica}
Tratamientos	13	14.2	7.1	14.4	F _{0.95,13,42} =2.3
Error	42	20.7			
Total	55	34.9	0.5		

Existe una diferencia significativa al 5% entre los tratamientos: INT, VEHÍC, DIAZ, BUS, MEL1, MEL2, VEHÍC+FLU, DIAZ+FLU, MEL1+FLU, MEL2+FLU, VEHÍC+FLUO, BUS+FLUO, MEL1+FLUO y MEL2+FLUO.

Una vez mostrados los resultados del modelo de Rota-Rod mostraremos a continuación los resultados promedio ($\bar{x} \pm \text{ESM}$) obtenidos del comportamiento de los ratones durante 15 min. en el modelo del Escondrijo después, de la administración i. p. e. i. v. de las diferentes sustancias para los diferentes tratamientos (Tabla No. 11 y gráfica No. 13).

Tabla No. 11. Resultados promedio de los parámetros ansiolíticos.

Tratamiento	\bar{x} No. de esferas escondidas. Efecto ansiolítico.
INT	6.0 ± 2
VEHÍC	6.7 ± 1
DIAZ	1.8 ± 0
BUS	2.0 ± 0
MEL1	6.2 ± 2
MEL2	2.0 ± 0
VEHÍC+ FLU	7.7 ± 2
DIAZ+ FLU	6.0 ± 1
MEL1+ FLU	7.8 ± 2
MEL2 + FLU	5.8 ± 2
VEHÍC+FLUO	7.6 ± 1
BUS+ FLUO	2.0 ± 1
MEL1+ FLUO	8.0 ± 1
MEL2 +FLUO	6.0 ± 1



Gráfica No. 13. Se muestran los $\bar{x} \pm$ ESM del número de esferas escondidas, cuando comparamos las barras de los grupos controles vs las de los grupos tratados (n =6). Las diferencias significativas son entre los grupos controles de DIAZ, BUS, MEL1 y MEL2 (**, $\infty = p < 0.05$) con "t de Student", también, cuando comparamos las interacciones contra los mismos grupos, no así cuando se realizan contra los controles a excepción de BUS+FLUO.

En esta segunda parte del estudio, con el método del Escondrijo también, se realizó un ANDEVA ⁴⁷ que nos permitió saber si hay diferencia entre los diferentes tratamientos; y una prueba “t de Student” ⁴⁷, con una probabilidad de $p < 0.05$ o de $p < 0.10$, la cual nos indica si hay diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla No. 12.

Tabla No. 12. ANDEVA para el efecto ansiolítico (Escondrijo) ⁴⁷.

Fuente de variación	g. l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F _{obtenida}	F _{teórica} .
Tratamientos	13	431.4	215.7	49.1	F _{0.95,13,70} =1.8
Error	70	307.5			
Total	83	738.9	4.4		

Existe una diferencia significativa al 5% entre los tratamientos de los ratones con ÍNT, VEHÍC, DIAZ, BUS, MEL1, MEL2, VEHÍC+FLU, DIAZ+FLU, MEL1+FLU y MEL2+FLU.

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos muestran claramente un efecto “ansiolítico” cuando administramos i.p. DIAZ (2 mg/Kg), MEL (2 mg/Kg) y BUS (5 mg/Kg), utilizando los modelos de Rota-Rod²⁵ y Escondrijo⁶², así como en las dos especies (ratas y ratones), este efecto esta de acuerdo con lo descrito previamente por otros autores cuando utilizan el modelo del Plus-Maze. 25, 26, 29, 31, 39, 40, 52, 60, 63

También, analizando la “coordinación motora”, donde evalúe el efecto “relajante muscular”, éste se manifiesta con DÍAZ y MEL (2mg/Kg), efecto que ya se había reportado para DIAZ³⁹; no así para MEL (2 mg/Kg) el cuál no esta reportado. La BUS (5mg/kg) carece de un efecto “relajante muscular” debido a que es un fármaco ansiolítico no sedante y por lo mismo no preduce relajación muscular.^{8, 24}

Por otro lado, el modelo del Escondrijo nos permitió caracterizar el efecto ansiolítico de BUS (5mg/kg), DIAZ y MEL (2 mg/Kg) en ratones.

Como el objetivo general de este trabajo está enfocado al mecanismo de acción específicamente de MEL, los datos obtenidos cuando aplicamos tratamientos solo con DIAZ o BUS permitieron realizar interacciones con las sustancias utilizadas y con el antagonista clásico reportado para DIAZ como lo es el FLU^{18, 43} y para BUS con el inhibidor de recaptura: FLUO⁵⁷, los resultados mostraron claramente un efecto antagonista para DIAZ no así para BUS, esto puede deberse a que la FLUO actúa como inhibidor de la recaptura se 5-HT y después de administrar BUS esta ya se capturó, por lo que se podrían usar antagonistas de 5-HT_{1A} como

metiotipina, spiperona y WAY100135⁷; o bien utilizando los mismos fármacos pero cambiando el orden de administración, es decir administrando primero al antagonista y después al agonista.

Por lo que respecta a MEL debido a que actualmente, no se cuenta con un antagonista “puro”, no realizamos estudios con un antagonista específico de MEL, sin embargo, utilizamos a FLU y FLUO. Esta aplicación se debió a que utilizamos las sustancias de DIAZ y BUS y a que ya se tiene bien caracterizado el mecanismo de acción de ambas sustancias^{25, 31, 40} con la finalidad de dilucidar por cual mecanismo actúa la MEL, si es diferente o igual a el mecanismo que usan DIAZ-FLU o BUS-FLUO; ya que se cuenta con reportes de MEL con mecanismo de acción similar a BZP en SNC⁸.

Los resultados obtenidos con las interacciones del FLU y la FLUO a (0.1mg/Kg) presentan un efecto antagonista sobre la MEL.

IX. CONCLUSIONES

- Se determinó el efecto “ansiolítico” de la MEL (2 mg/Kg), DIAZ (2 mg/Kg) y BUS (5mg/Kg), en los modelos de Rota-Rod para ratas y del Escondrijo en ratones.
- El efecto “ansiolítico” del DIAZ y MEL a la misma dosis (2 mg/Kg) se determinó en dos modelos y especies diferentes.
- La MEL y el DIAZ a 2 mg/Kg disminuyen significativamente la coordinación motora en ratas en el modelo de Rota-Rod.
- La BUS (5 mg/Kg) carece de efecto sobre la coordinación motora pero si presenta efecto “ansiolítico”.
- El FLU (0.1mg/Kg) produjo un efecto antagonista cuando se administran DIAZ o MEL (2 mg/Kg).
- La FLUO (0.1mg/Kg) no produce un efecto antagonista cuando se administra con BUS.
- La FLUO (0.1mg/Kg) produce un efecto antagonista cuando se administra con MEL a una dosis de 2 mg/Kg.
- El mecanismo de acción de la MEL como ansiolítico y sobre la coordinación motora puede ser por un mecanismo similar al de las BZP y al de la 5-HT en SNC.

X. EXPECTATIVAS

Este trabajo se podría continuar de las siguientes maneras:

- Usando algun antagonista de 5-HT_{1A} como metiotipina, spiperona y WAY100135⁷.
- Empleando los mismos fármacos pero cambiando el orden de administración, administrando primero al antagonista y después al agonista.
- Administrando derivados de la MEL para comparar sus “efectos” con los de esta última.
- Comparando el efecto “ansiolítico” de la MEL obtenido en este modelo con el efecto de la MEL en otros modelos como el de rebanadas de cerebro.
- Investigando en otros musculos como músculo liso si la MEL tiene efecto relajante ya que disminuye el número de bolos fecales.

XI. GLOSARIO⁶⁵

Acetilcolina.- Neurotransmisor envuelto en la cognición, estado de ánimo, sueño, músculos, estómago, bazo, vejiga, hígado, glándulas sudoríparas, vasos sanguíneos, y corazón.

Ácido Gama-aminobutírico (GABA).- Neurotransmisor inhibitorio que se encuentra abundantemente en el sistema nervioso. GABA y las benzodiazepinas pueden actuar en diferentes sitios del mismo receptor para inhibir las células nerviosas.

Adicción.- Dependencia emocional y fisiológica a ciertos fármacos cuyo abuso es notable por sus efectos sobre el SNC. Preocupación y uso compulsivo de una experiencia o sustancia sin importar las consecuencias adversas. La adicción involucra generalmente pérdida de control y aumento en la tolerancia. Algunas personas pueden tener predisposición biológica o genética a la adicción.

Agitación.- Inquietud excesiva, aumenta la actividad física y mental.

Agonista.- Fármaco que se fija al receptor y estimula su función.

Agorafobia.- Fobia de ansiedad o ataques de pánico que resulta en la evasión de algunas cosas o situaciones.

Amígdala.- Región del cerebro que procesa las respuestas ante el peligro. La disfunción de la amígdala está relacionada con la depresión, ansiedad y trastorno de pánico.

Anestesia.- Pérdida parcial o total de la sensación con o sin pérdida del conocimiento al sufrir lesiones o administrar un anestésico.

Ansiogénico.- Término usado para describir cualquier cosa o situación que cause ansiedad.

Ansiolítico.- Fármaco que contrarresta o disminuye la ansiedad.

Antagonista.- Fármaco que previene la estimulación de receptores. Tiene afinidad por un receptor celular y, al fijarse a éste, evita que la célula responda. Contrarresta la acción de un agonista.

Anticonvulsivo.- Fármaco que previene o alivia las convulsiones.

Antidepresivo.- Término usado para describir los medicamentos que son usados en el tratamiento de la depresión. Dichos medicamentos son útiles también en el tratamiento de los trastornos de ansiedad y pánico, pero siguen siendo llamados antidepresivos ya que los doctores los usaron inicialmente para tratar la depresión sin darse cuenta que dicho medicamento podía tratar la ansiedad también.

Aparato genitourinario.- Órganos y partes relacionada con riñones, vejiga urinaria y órganos de la reproducción.

Asfixia.- Trastorno por falta de oxígeno en el aire que se respira.

Barbitúrico.- Grupo de sedantes e hipnóticos derivados del ácido barbitúrico.

Benzodiazepina.- Grupo de medicamentos que pueden inhibir la actividad de las células nerviosas, ya sea directamente a través de los receptores benzodiazepinos, o indirectamente al interferir con la acción del transmisor colecistokinina.

Cognición.- Funciones mentales como la memoria, concentración, percepción y reconocimiento.

Colateral.- Que va al lado. Junto.

Colecistokinina (CCK).- Hormona y neurotransmisor que se ha relacionado aparentemente con los ataques de pánico en algunos casos.

Cromosoma.- Filamento lineal en el núcleo de la célula, contiene el DNA y los genes. En el hombre hay 23 pares de cromosomas.

Dependencia.- Adaptación del SN al uso constante de cualquier droga sedativa.

Disuria.- Micción difícil o dolorosa.

Dolor torácico.- Dolor intenso en el torax por esfuerzo.

Electroencefalograma (EEG).- Dispositivo médico para el monitoreo de los ritmos eléctricos del cerebro. Se usa frecuentemente para descartar convulsiones en casos de trastorno de pánico.

Emético.- Cualquier agente usado para inducir vómito.

Estrés.- Cualquier fuerza biológica o psicológica que produzca un cambio en la salud mental o física. Usualmente el estrés esta asociado con cambios en el medio ambiente. Originalmente, el termino "estrés" era aplicado exclusivamente a cualquier disturbio de homeostasis biológica.

Expectoración.- Acto o proceso de escupir saliva o expulsar materiales de las vías respiratorias que conducen a los pulmones.

Fobia.- Temor exagerado.

Frigidez.- Inhibición de le excitación sexual durante la actividad sexual.

Gemelos dicigotos.- Niños que provienen de dos óvulos fecundados al mismo tiempo.

Gemelos monocigotos.- Niños que provienen de un solo óvulo fecundado, tienen las mismas características.

Gen.- Unidad básica de la herencia.

Hiperventilación.- Aumento en la ventilación de volumen minuto, que produce disminución en el nivel de CO₂.

Hipnosis.- Estado subconsciente en el cual las manifestaciones subjetivas de la mente son más o menos inactivadas.

Hipnótico.- Fármaco que causa insensibilidad al dolor inhibiendo los impulsos aferentes a la recepción de impresiones sensoriales en los centros corticales del cerebro, originando así pérdida parcial o total del conocimiento.

Hipocondría.- Preocupación exagerada por las enfermedades o desórdenes médicos que puede llevar a síntomas psicomaticos.

Hipoglicemia.- Deficiencia de azúcar en la sangre.

Impotencia.- Debilidad para lograr o conservar la erección.

Insomnio.- Trastorno del sueño, falta de sueño.

Mareo.- Sensación de que se va a desmayar. Puede incluir el sentirse flotando.

Melatonina - Hormona derivada de la serotonina y producida por la glándula pineal.

Nervio aferente.-Transmite impulsos de la periferia al SNC.

Nervio eferente.- Nervios que llevan impulsos que tienen los siguientes efectos: motor, contracción, secreción de glándulas e inhibidor que hace que algunos órganos entren en reposo.

Neurotransmisor.- Cualquier químico que transmita información de una neurona a otra. En otras palabras, es una sustancia liberada de una célula nerviosa hacia un espacio extracelular muy pequeño llamado sinapsis, produciendo entonces excitación o inhibición en otra célula nerviosa inmediatamente contigua.

Obsesivo.- Descriptivo de una pensamiento, imagen o impulso persistente.

Oliguria.- Disminución de la cantidad de formación de orina.

Patología.- Estudio de la naturaleza y causa de una enfermedad, que incluye los cambios en la estructura y función.

Piloerección.- Erección del pelo o endurecimiento aparente por estimulación y contracción de los músculos erectores de los pelos.

Preanestesia.- Anestesia ligera producida por medicamentos administrados antes de la anestesia.

Psicosomático.- Describe los síntomas que aparentan ser físicos, pero que en realidad son causados por alguna forma de estrés psicológico.

Relajante muscular.- Fármaco que alivia o disminuye la tensión muscular.

Sedación.- Proceso de tranquilizar la excitación nerviosa.

Serotonina (5-HT).- Hormona y neurotransmisor (indolamina) asociado con el apetito, sueño, depresión y trastornos de ansiedad y pánico. En algunos casos un desequilibrio en la serotonina puede ser responsable por oleadas de colecistokinina.

Taquicardia.- Rápidez anormal de la acción cardíaca; suele definirse como frecuencia cardíaca mayor a 100 latidos por minuto en adultos.

Tolerancia.- Resistencia a los efectos de un medicamento sedativo.

Tranquilizante.- Fármaco que actúa reduciendo la tensión y la ansiedad mental sin interferir con la actividad mental normal.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Adams R. H. (2003). Farmacología y terapéutica veterinaria. 2ª ed. Arribia 346p.
2. Andrews J. S. and Broekkamp C. L. E. (1993) Procedures to identify anxiolytic or anxiogenic agents. A practical Approach Vol II. Edited by A Satugal Oxford University. Neuroscience Biobehavioural 37-54p
3. Angrini Manar, Julian C. Leslie and Robert A. Shephard. (1998). Effects of propranolol, buspirone, pCPA, reserpine, and chlordiazepoxide on Open-Field Behavior. Pharmacology biochemistry and Behaviour, Vol. 59, No.2, 387-397p.
4. Asociación Mundial de Psiquiatría (1999). Diagnostico y tratamiento de los trastornos de la ansiedad. Medicine Vol. 7 No. 106.
5. Betaza Patricia (Nov 20, 2003). México. Noticieros Televisa.com.
6. Blackburn-Munro Gordon, Bonhotl Signe F., y Erichsen Hell K. (2004) "Behavioural effects of the novel AMPA/GluR5 selective receptor antagonist NS1209 after systemic administration in animal models of experimental pain" Neurofarmacology 47, 351-362pp.
7. Boulosa Oscar y López-Mato Andrea M. (1997) "Actualización sobre Neurotransmisión serotoninérgica" Alcmeon 20. Año VIII Vol 5. No. 4
8. Brailowsky Simón (2004). Las sustancias de los sueños neuropsicofarmacología. 1ª ed. México, Fondo de Cultura Económica.
9. Bremner, J. D., Randall, P., Scout, T. M., Bronen, R. A., Seibyl, J. P., Salwick, S. M., Delaney, C. R., Mc Carthy, C., Charney, D. S., & Innis, R. B. (1995) MRI based measurement of hippocampal volume in patients with combat related post traumatic stress disorder. Am J Psychiatry 152, 973-981p.
10. Bryn Tennant (2001). Manual de Fórmulación en pequeños animales. España s/ed 321p.
11. Buitrago Manuel M., Schulz Jörg B., Dochgans Johannes Dichgans, Luft Andreas R. (2004). "Short and long-term motor skill learning in an accelerated rotarod training paradigm" Neurobiology of learning and Memory 81, 211-216p.
12. Centro de Investigaciones Médicas en Ansiedad. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina info@centroima.com.ar · <http://www.centroima.com.ar/>
13. Charney, D. S., Heninger, G. R., Breir A. (1984). Noradrenergic function in panic anxiety; effects of yohimbine in healthy subjects and patients with agoraphobia and panic disorder. Arch. Gen Psychiatry 41: 751-776p.
14. Clement Yan, Georges Chapouthier (1998). Biological bases of anxiety. Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 22:5 623-633p.

15. Conde Cotes Carlos Arturo (2004) Estudio Neurobiológico de la memoria emocional asociada a estados de ansiedad en ratas una aproximación basada en modelos etológicamente fundamentados para la comprensión de mecanismos funcionales y evaluación de fármacos. Depto. De Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Colombia. conde@uis.edu.co
16. Coplan, J. D., Gorman, J. M. & Kelin, D. F. (1992). Serotonin-related function in panic disorder: a critical overview. *Neuropsychopharmacology* 6, 189-200p.
17. Craske, M.G. y Barlow, D.H. (1993). Panic disorder and agoraphobia (25-28p). En D.H. Barlow (Ed.), *Clinical handbook of psychological disorders* (2ª ed., pp. 1-47). Nueva York: Guilford.
18. *Critical Care Medicine* (1996). Diagnóstico y tratamiento de la intoxicación por benzodiazepinas con flumazenil. 24: 199-206p
19. Crowe, R. P., Noyes R., Wilson, A. F., Elston, R. C. y Ward, I. J. (1987). A linkage study of panic disorder. *Archives of General Psychiatry*, 44, 933-937p.
20. Dana G. Allen, Pringle J. K. Smith D. A., Lippincott-Raven (1998). *Handbook of veterinary drugs*. 2a ed. Nueva York. 102p.
21. Daugé Valérie, Léna Isabelle (1998). CCK in anxiety and cognitive processes. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*. 22:6 815-825p.
22. Davis M. (1986). Pharmacological and anatomical analysis of fear conditioning using the fear-potentiated startle paradigm. *Behav. Neurosci* 100:814-824p
23. Den Boer, J. A., & Westenberg, H. G. M (1993). Critical notes on the locus coeruleus hypothesis of panic disorder. *Acta Neuropsychiatry* 5, 48-54p.
24. Departamento de Ciencias Fisiológicas (2000). Sesión 54. Clase de: Ansiolíticos e hipnosedantes. fisio@hermes.javeriana.edu.co
25. *Diccionario de Especialidades Farmacéuticas* (2003) 49 ed.
26. Duch Campodarbe F. R., Ruiz de Porras Rossello L., Gimeno Ruiz D. Manejo clínico de los ansiolíticos. *Semergen* 24 (10): 826-836p.
27. Dunham, N. M. & Miya T. S. (1957). A Note on a Simple Apparatus for Detecting Neurological Deficit in Rat & Mice. *J. Am. Pharmaceut. Assoc. Scientific Edit.*, Vol. XLVI, No. 3.
28. Echeburúa Enrique (1996). Clasificación de los trastornos de ansiedad. En: *Avances en el tratamiento psicológico de los trastornos de ansiedad*. Madrid, Pirámide. 19-32 p.

29. Fernández-Guasti A, López-Rubalcava c, Picazo (1996). Cambios en el efecto ansiolítico de los agonistas 5-HT_{1A}, de acuerdo con la especie, la edad, el género y el estado endocrino del individuo. *Salud Ment* 19(3): 36-41.
30. Guyton, A. C. (1987). *Fisiología Humana*. México, Nueva Editorial Interamericana. 96-118 p
31. Goodman y Gilman (1996). *Las bases farmacológicas de la terapéutica* Vol. I. 8ª ed. México, Mc. Graw Hill Interamericana, 386-408 y 423-457p.
32. Guy Griebel, Ghislaine Perrault, Jacques Simiand, Caroline Cohen, Patrick Granger, Michel Decobert, Dominique Françon, Patrick Avenet, Henri Depoortere, Suon Tan, André Oblin, Hans Schoemaker, Yannick Evanno, Mireille Sevrin, Pascal George and Bernard Scatton. SL651498: An Anxiolytic Compound with Functional Selectivity for α_2 - and α_3 -Containing γ -Aminobutyric Acid_A (GABA_A) Receptors. CNS Research Department, Discovery Research, Sanofi-Synthelabo, Bagneux, France
33. Hollister E. Leo, M. D: (1982). *Ansiolíticos*. En: *Farmacología Clínica de Drogas Psicoterapéuticas*, s/ed., Panamericana, 24-62p.
34. Houssay Alberto B., Cingolani Horacio E, et al (2000). *Fisiología de la glándula pineal*. En: *Fisiología médica*. 9ª ed. Argentina, El Ateneo 633-637p
35. Houssay Alberto B., Cingolani Horacio E, Guyton Arthur C, Hall Jonh E. et al (2000). *Contracción del músculo esquelético*. En: *Fisiología médica*. 9ª ed. Argentina, El Ateneo 79-94p
36. Houssay Alberto B., Cingolani Horacio E, Guyton Arthur C, Hall Jonh E. et al (2000). *Excitación del músculo esquelético*. En: *Fisiología médica*. 9ª ed. Argentina, El Ateneo 95-102p
37. Index Merck (2000).
38. Jerez Magaña Álvaro Antonio (2004). *Neurotransmisores*. <http://www.drjerez.com/>
39. Jessa M., Nazar M., Bidinski A., Plaznik A. (1996). The effects of repeated administration of diazepam, MK 801 and CGP 37849 on rat behavior in two models of anxiety. *Eur. Psychopharmacol.* 6: 55-61p.
40. Katzung G. Bertram Md, PHD., (2002) *Farmacología básica y clínica*. 8ª ed. México, D. F., El manual moderno. 67-69, 328-329, 388-389 y 461-472.
41. Laudanno O. M., Cesolari J., Geolito I., San Miguel P., Bedini O. (2001). *Sistema Nervioso Autónomo y estrés gástrico, en ratas*. Gastroent. Experiencia Facultad de Ciencias Médicas. Rosario. UNR.
42. LeDoux, J. (1998) *Fear and the brain: where have we been and where are we going*. *Biol Psychiatry* 44, 1229-1238p.

43. Léprori, Luis Raúl (2002). *Farmacología clínica de bolsillo*. 1ª. Edición, Buenos Aires, Argentina. Base de datos. 304p.
44. Lister G. Richard. (1990). Ethologically-based animal models of anxiety disorders *Pharmac. Ther.* 46: 321-340p.
45. Lopategui Corsino Edgar (2004). *El sistema muscular durante el reposo*. 1ª. Edición. México, D. F., Mc Graw-Hill
46. Louie, A. K., Lannon, R. A., & Ketter. T. A., (1989). Treatment of cocaine induced panic disorder. *Am j Psychiatry* 146, 450-44p.
47. Marqués de Cantú, María José. (1991). *Probabilidad y estadística para ciencias químico-biológicas*. Preedición, México, D. F., Mc Graw-Hill pp 195, 233, 361-371, 558 y 569-570
48. Mc Ewen, B., & Sapolsky, R. (1995) *Stress and cognitive functioning*. *Curr Opin Neurobiol* 5, 205-216p.
49. Medina Mora Ma. Elena y cols. (1997). *Investigaciones Epidemiológicas del Instituto Nacional de Psiquiatría*
50. Müller C. E., Deters D., Dominik And Pawlowlki M. (1998). Synthesis of Paraxanthine and Isoparaxanthine Analogs (1,7-and 1,9-Substituted Xanthine Derivatives), *Pharmazaustische Chemie*, vol 8, 1428-1436p.
51. Murria, P. D., McGavern, D. B., Sathornsumtee, S. and Rodriguez M. (2001) Spontaneous remyelination following extensive demyelination is associated with improved neurological function in a viral model of multiple sclerosis. *Oxford University Press. Brain*, Vol. 124, No. 7, 1403-1416p
52. Naranjo Rodríguez Elia Brosla., Ortiz Osornio Alejandro, Hernández Avita Eva, Mendoza Víctor, Escobar Alfonso (2000). Anxiolytic-like actions of melatonin 5-metoxtryptophol, 5-hidroxytryphol and Benzodiazepines on a conflict procedure. *Prog. Neuro-Psycopharmacol and Biol.* 24: 117-129p.
53. Naranjo Rodríguez, Elia B., Vázquez Alvarez Ana Ma, Gómez Martínez Atonatiu E., Herrera Ruiz Maribel y Perez Severiano.(2004) "Relación entre la estructura química y el efecto farmacológico". En un interesante contenido farmacológico para sesiones experimentales. Facultad de Química. Depto. de farmacia, sección farmacológica. 2ª. Edición
54. Navarro José Francisco (2000). Bases biológicas de los trastornos de ansiedad, bases biológicas de los trastornos de pánico. En *Bases biológicas de las psicopatologías*. 1ª ed, Barcelona. 11-123p.
55. Notimex (julio 31, 2004).
56. Page C. P., Curtis M. J., Sutter M. C., Walker M. J., Hoffman B. B. (1998). *Fármacos y Sistema Nervioso Central*. En: *Farmacología Integrada*. Harcourt Brace, 114-116p

-
57. Porras Serna Ernesto Raúl. <http://www.pnlneyt.com>
58. Preclinical Motor Coordination Assessment. <http://www.ugobasilenews.com>
59. Red interamericana de validación de plantas medicinales (RIVAPLAMED)-CYTED. (1996) Validación de plantas medicinales con actividad sedante-tranquilizante. Coimbra Portuga. Facultad de Medicina y de Farmacia.
60. Redmon, D. E. (1985). Neurochemical basis for anxiety and anxiety disorders: evidence from drugs which decrease human fear or anxiety. En A Tums eds. Anxiety and Anxiety Disorders. Hillsdale: Lawrence Erlbaum. 530-555p
61. Richard Paylor, Shinji Hirotsune, Michael J. Gambello, Lisa Yuva-Paylor, Jacqueline N. Crawley, and Anthony Wynshaw-Boris. (1999) Impaired Learning and Motor Behavior in Heterozygous Pafah1b1 (Lis1) Mutant Mice. Vol. 6, No. 5, 521-537 p.
62. Santaella Lola. (2001) Melatonina. Saludalia@saludalia.com
63. Shimada T., Matsumoto K., Osanani M., Matsuda H., Terasawua K., Watanabe H. The modified light/dark transition test in mice: Evaluation of classic and putative anxiolytic and anxiogenic drug. Gen. Pharmacol. 26: 205-210p
64. Sousa F. C. F., Melo C. T. V., Monteiro A. P., Lima V. T. M., Gutierrez S. J. C., Pereira B. A., Barbosa-Filho Barbosa, Vasconcelos S. M. M., Finteles M. F., y, Viana G. S. B. (2004) "Antianxiety and antidepressant effects of riparin III from Aniba riparia (Nees) Mez (Lauraceae) in mice". Pharmacology biochemistry and behavior 78, 27-23pp.
65. Taber's. (1997). Diccionario médico enciclopédico. México, 17ª. Edición. El Manual Moderno.
66. Uriarte N, Pereira m y Ferreira A. (2003) Efecto de la administración de buspirona y 8-OH-DPAT en la ansiedad de ratas en lactancia y ovariectomizadas. Sección Fisiología. Facultad de ciencias- Uruguay.
67. Vademecum fármacéutico (2000). 9a ed. Editores Rezza.
68. Van De Graaff, K. M., & Rhees, R. W. (1999). Anatomía y Fisiología Humanas: Teoría y Problemas. 2ª. Edición. México. McGraw-Hill Interamericana. 123-132 pp.
69. Weerts E. M, Walter Tornatzky and Klaus A. Miczek. (1993) Anxiolytic and anxiogenic benzodiazepines and β -carbolines: effects on aggressive and social behavior in rats and squirrel monkeys. Psychopharmacology 110: 451-459p.
70. Woodruff G. H., Hugues J. (1991). Cholecystolinin antagonists. Ann. Rev. Pharmacolo. Toxicol. 31: 469-501p.