

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Evaluación de las propiedades antidepressivas
del tolueno en dos modelos de depresión**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

PAULINA SOBERANES CHÁVEZ



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

Tutora: Dra. Silvia Lorenia Cruz Martín del Campo



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.

FACULTAD DE CIENCIAS

División de Estudios Profesionales



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente



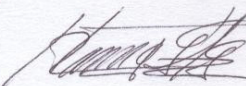
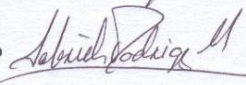
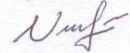
Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:
Evaluación de las propiedades antidepressivas del tolueno en dos modelos de depresión

realizado por Paulina Soberanes Chávez

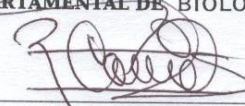
con número de cuenta 09930634-0, quien cubrió los créditos de la licenciatura en

Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

| | |
|-------------|--|
| Tutor (a) | |
| Propietario | Dra. Silvia Lorenia Cruz Martín del Campo  |
| Propietario | Dra. Carolina López Rubalcava  |
| Propietario | Dra. Gertrudis Hortensia González Gómez  |
| Suplente | Dra. Gabriela Rodríguez Manzo  |
| Suplente | Dra. Nayeli Paez Martínez  |

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D.F., a 16 de Noviembre del 2006
CONSEJO DEPARTAMENTAL DE BIOLOGÍA


Dr. Zenón Cano Santana



Quiero agradecer al Centro de Investigación y Estudios Avanzados y a la Dra. Silvia Lorenia Cruz
Martín del Campo por el apoyo en la realización de esta tesis.

Dedicatoria

Esta tesis la quiero dedicar con mucho cariño a mi mamá María Félix Chávez, que a pesar de no estar cerca es un estímulo para seguir adelante y gracias por todo el cariño.

A mi papá Pedro Soberanes Otero por el ejemplo de buscar en todo momento la superación, por sus valores y su amor.

A mis hermanos Edgar, Ricardo y Miguel Ángel, que esto sirva de estímulo para que siempre busquen superarse.

Y en especial a Dorian Antonio por su amor, comprensión y apoyo para la culminación de esta meta.

Agradecimientos

A la Dra. Silvia Lorenia Cruz y a la Dra. Carolina López por su apoyo, consejos y compartir sus conocimientos conmigo

A los Sres. Isaí Méndez y Abraham Contreras por su apoyo técnico.

A Ixel, César e Isabel, mis amigos de toda la carrera, gracias por su amistad y por todas las cosas que compartimos.

A Ivon, Paulina Flores, Abigail, Kathya, Yislem, Luis, Chucho, Miguel y Martin, échenle ganas en todo lo que hagan.

CONTENIDO

| | |
|---------------------------------|-----|
| I. Índice General..... | i |
| II. Índice de figuras..... | iii |
| III. Lista de Abreviaturas..... | iv |
| IV. Resumen..... | v |

I. Índice General

| | |
|---|-----------|
| Capítulo 1. DEPRESIÓN..... | 1 |
| 1.1 Definición..... | 1 |
| 1.2 Clasificación y diagnósticos de la depresión..... | 1 |
| 1.3 Hipótesis monoaminérgicas de la depresión..... | 3 |
| 1.3.1 Hipótesis catecolaminérgica..... | 3 |
| 1.3.2 Hipótesis serotoninérgica | 6 |
| 1.4. Sistema glutamatérgico y depresión..... | 8 |
| 1.5 Tratamiento de la depresión..... | 9 |
| 1.6 Modelos animales para el estudio de la depresión..... | 11 |
| 1.6.1 Modelo de Nado forzado..... | 11 |
| 1.6.2 Modelo de Suspensión de la cola..... | 12 |
| | |
| Capítulo 2. TOLUENO..... | 14 |
| 2.1 Inhalables: Definición..... | 14 |
| 2.1.1 Clasificación..... | 14 |
| 2.2 Disolventes..... | 14 |
| 2.2.1 Generalidades | 14 |
| 2.3 Tolueno..... | 15 |
| 2.3.1 Propiedades fisicoquímicas..... | 15 |
| 2.3.2 Usos..... | 15 |
| 2.3.3 Farmacocinética..... | 15 |
| 2.4 El tolueno como depresor del SNC..... | 17 |
| 2.4.1 Efectos sobre la actividad locomotora..... | 17 |
| 2.4.2 Efecto ansiolítico..... | 18 |
| 2.4.3 Efectos anticonvulsivantes..... | 18 |
| 2.4.4 Propiedades estímulo discriminativas..... | 18 |
| 2.4.5 Efectos reforzantes del tolueno..... | 19 |
| 2.4.6 Conducta operante..... | 19 |
| 2.4.7 Efectos sobre la nocicepción..... | 19 |
| 2.4.8 Tolerancia..... | 20 |
| 2.5 Mecanismo de acción del tolueno..... | 20 |
| 2.5.1 Efectos sobre receptores glutamatérgicos..... | 20 |
| 2.5.2 Efectos sobre sistema noradrenérgico..... | 21 |
| 2.5.3 Efectos sobre receptores 5-HT..... | 21 |
| 2.5.4 Otros efectos..... | 21 |

| | |
|---|----|
| Capítulo 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 22 |
| 3.1 Hipótesis..... | 22 |
| 3.2 Objetivo general..... | 22 |
| 3.2.1 Objetivos particulares..... | 22 |
| Capítulo 4. MATERIALES Y MÉTODOS | 23 |
| 4.1 Animales..... | 23 |
| 4.2 Sustancias..... | 23 |
| 4.3 Exposición a disolventes..... | 23 |
| 4.4 Modelos experimentales..... | 25 |
| 4.4.1 Modelo de nado forzado | 25 |
| 4.4.2 Modelo de suspensión de la cola..... | 25 |
| 4.5 Análisis estadístico..... | 25 |
| Capítulo 5. RESULTADOS | 26 |
| 5.1 Efecto de la administración de un inhibidor de la recaptura de noradrenalina (DMI), un inhibidor de la recaptura de serotonina (CMI) y un antagonista de los receptores NMDA (KT) en el modelo de Nado Forzado..... | 26 |
| 5.2 Efecto de la administración de tolueno en el modelo de Nado Forzado..... | 28 |
| 5.3 Efecto de la combinación de dosis subóptimas de los compuestos antidepresivos con tolueno.. | 29 |
| 5.4 Efecto de la administración de los antidepresivos en el modelo de Suspensión de la cola..... | 30 |
| 5.5 Efecto de la exposición a tolueno en el modelo de Suspensión de la cola..... | 31 |
| 5.6 Efecto de la combinación de dosis subóptimas de los antidepresivos y de tolueno en el modelo de suspensión de la cola..... | 32 |
| Capítulo 6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES | 33 |
| Referencias | 37 |

II. Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| 1. Síntesis de los neurotransmisores catecolaminérgicos: dopamina, noradrenalina y adrenalina. | 4 |
| 2. Síntesis de la serotonina. | 6 |
| 3. Estructura química del antidepresivo tricíclico desipramina y su presentación farmacéutica comercial..... | 10 |
| 4. Estructura química del antidepresivo tricíclico clorimipramina y su presentación farmacéutica comercial. | 11 |
| 5. Estructura química del tolueno. | 15 |
| 6. Ruta de biotransformación del tolueno. | 17 |
| 7. Cámara de exposición a disolventes. | 24 |
| 8. Efecto de la desipramina (DMI) en el modelo de nado forzado. | 26 |
| 9. Efecto de la exposición subcrónica de clorimipramina (CMI), en la prueba de nado forzado..... | 27 |
| 10. Efecto de ketamina, en la prueba de nado forzado. | 28 |
| 11. Efecto del tolueno en el modelo de nado forzado..... | 28 |
| 12. Efecto de las combinaciones de los antidepresivos con tolueno en el modelo de nado forzado. | 29 |
| 13. Efecto de la desipramina (DMI) en el modelo de suspensión de la cola. | 30 |
| 14. Efecto de la exposición subcrónica de clorimipramina (CMI), en la prueba de suspensión de la cola. | 30 |
| 15. Efecto de la administración de ketamina, en la prueba de suspensión de la cola. | 31 |
| 16. Efecto del tolueno en el modelo de suspensión de la cola. | 31 |
| 17. Efecto de la administración conjunta de los antidepresivos con el tolueno. | 32 |

III. Lista de Abreviaturas

| | |
|--------|--|
| AMPA | α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazole |
| 5-HIAA | ácido 5-hidroxi-indolacético |
| GABA | ácido γ -aminobutírico (siglas en inglés) |
| KA | ácido kainico |
| A | Adrenalina |
| ATCs | antidepresivos tricíclicos |
| COMT | catecol-o-metil-transferasa |
| CMI | Clorimipramina |
| AADC | descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos |
| DMI | desipramina |
| DA | dopamina |
| DBH | dopamina β hidroxilasa |
| PNMT | fenil-etanolamina N-metil-transferasa |
| IP | fosfoinositol |
| ISRS | Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina |
| KT | ketamina |
| DMSIV | Manual de Diagnóstico y Estadístico de Enfermedades mentales, versión IV |
| MHPG | 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol |
| MAO | monoaminaoxidasa |
| NA | noradrenalina |
| NMDA | N-metil-D-aspartato |
| ppm | partes por millón |
| PTZ | pentilentetrazol |
| mGluRs | receptores glutamatérgicos metabotrópicos |
| 5-HT | Serotonina |
| SNC | Sistema Nervioso Central |
| TH | tirosina hidroxilasa |
| NAT | Transportador a noradrenalina |
| SERT | Transportador a serotonina |
| TCE | 1,1,1- tricloroetano |

IV. Resumen

Se ha reportado que los adolescentes que abusan o dependen de inhalables son significativamente más propensos a tener episodios de depresión mayor e intentos de suicidio, en comparación con los adolescentes que nunca han inhalado estos compuestos. Es difícil determinar si la depresión es un factor predisponente o una consecuencia del abuso de inhalables. A pesar de ello, a la fecha, no hay estudios encaminados a analizar las acciones de los inhalables en modelos animales de depresión.

El objetivo principal del presente trabajo fue analizar los efectos de la inhalación del tolueno en dos modelos animales de depresión: a) la prueba de nado forzado; y b) la prueba de suspensión de la cola. Para ello se realizaron dos series de experimentos. Por un lado, se expusieron ratones macho a tolueno (0, 500, 1000, 2000 y 4000 partes por millón (ppm)) en una cámara de exposición estática durante 30 min, e inmediatamente después se evaluaron en cada uno de los modelos de depresión durante 5 minutos. Los resultados se compararon con los obtenidos con ratones tratados con antidepresivos clásicos como la clorimipramina (CMI) y la desipramina (DMI) (0-10 mg/kg i.p.); y la ketamina (0-50 mg/kg i.p.), un antagonista NMDA con actividad antidepresiva. Los resultados mostraron que el tolueno produce un efecto antidepresivo que se manifiesta como una disminución significativa, y dependiente de la concentración del tiempo total de inmovilidad. Estos efectos fueron similares a los producidos por los tres antidepresivos usados como referencia. Por otro lado, una vez obtenidas las curvas dosis-respuesta de cada compuesto individual, se combinaron dosis subefectivas de los antidepresivos con una concentración, también subefectiva, de tolueno en experimentos individuales. Los resultados mostraron que los ratones expuestos a las combinaciones de CMI + tolueno y DMI + tolueno, en ambos modelos, no presentaron un sinergismo en el tiempo total de inmovilidad. Por el contrario, la combinación de ketamina + tolueno sí presentó un sinergismo, manifestado como una disminución significativa del tiempo de inmovilidad, en ambos modelos de depresión.

En conclusión, se puede decir que el tolueno produce efectos tipo antidepresivo, los cuales deberán ser caracterizados con mayor profundidad tanto farmacológica como conductualmente en estudios futuros.

Capítulo 1. DEPRESIÓN

1.1 Definición

El Manual Diagnóstico y Estadístico de Enfermedades Mentales, el DMSIV (1998), define a la depresión como un estado de alteración del estado de ánimo que se caracteriza por la presencia de sentimientos de tristeza, desesperanza o abandono, anhedonia (incapacidad para sentir placer), alteraciones del sueño, agitación o retardo psicomotor, fatiga, sentimientos de culpa, abatimiento cognitivo, incapacidad para concentrarse e ideas recurrentes de muerte o suicidio.

1.2 Clasificación

De acuerdo a su origen, la depresión puede clasificarse de la siguiente manera:

- Depresión reactiva: también conocida como secundaria, es la más común y se presenta en respuesta a un factor ambiental como el estrés, enfermedad y otros.
- Depresión endógena: se debe a un trastorno bioquímico, debido a que no se reconoce una causa aparente en el ambiente.
- Depresión asociada a alguna enfermedad o al consumo de sustancias.

Para establecer que existe un cuadro depresivo es necesario que el paciente manifieste un conjunto de síntomas como los siguientes: pérdida de interés por actividades que antes le resultaban placenteras, tristeza la mayor parte del día durante todos los días, durante al menos dos semanas, pérdida o ganancia de peso, insomnio y/o hipersomnias, agitación o retardo motor, fatiga o pérdida de energía, sentimientos de culpa o preocupación injustificada, pérdida de la concentración, pensamientos de muerte o suicidio e intentos de suicidio. Estos síntomas deben presentarse casi todos los días.

El DMS-IV clasifica a los trastornos depresivos de la siguiente manera:

- Trastorno depresivo mayor: se caracteriza porque al menos se presenten 5 de los síntomas mencionados anteriormente durante al menos 2 semanas, sin que se haya manifestado algún episodio de manía, un episodio mixto o uno de hipomanía. A éste se le conoce como desorden depresivo mayor simple, mientras que, el desorden depresivo mayor recurrente, se caracteriza por la presencia de dos o más episodios depresivos, además, la diferencia entre estos episodios es un intervalo de por lo menos dos meses consecutivos en los que no se reúnen los criterios para diagnosticar un episodio depresivo mayor.

- Desorden distímico: en donde el paciente se encuentra deprimido crónicamente durante la mayor parte del día al menos 2 años. Se acompaña de trastornos alimenticios, del sueño, fatiga, disminución de la autoestima, pérdida de la concentración, sentimientos de desesperanza, desinterés y autocrítica prominente.
- Desorden depresivo no especificado: se incluyen los desórdenes que no alcanzan los criterios de depresión mayor, distimia, desorden de ajuste con depresión y ansiedad. Dentro de esta clasificación se consideran:
 - i) El desorden disfórico premenstrual: en cada ciclo menstrual, durante al menos un año, se presentan los siguientes síntomas: estado de ánimo deprimido, ansiedad marcada, labilidad afectiva, irritabilidad, aumento de conflictos interpersonales, disminución del interés por las actividades que se realizan rutinariamente, dificultad para concentrarse, fatiga o pérdida de energía y percepción de estar fuera de control. También se presentan alteraciones vegetativas como cambios en el apetito (aumento de la ingesta de alimento), hipersomnias o insomnio, acompañado de dolor de cabeza, dolor muscular, aumento de peso, entre otros. Estos síntomas deben presentarse de manera continua a lo largo de un año durante los ciclos menstruales, apareciendo una semana antes de la menstruación y una semana después de la misma.
 - ii) Desorden depresivo menor: Se consideran a los episodios que se caracterizan por la presencia de humor deprimido durante la mayor parte del día, todos los días o una disminución del interés por todas o casi todas las actividades cotidianas. Uno de los síntomas debe ser acompañado de otro de los requeridos para la clasificación de estado depresivo mayor, presentar menos de cinco de los síntomas mencionados anteriormente y presentarse de manera continua durante al menos dos semanas.
 - iii) Desorden depresivo breve recurrente: son episodios depresivos de duración de dos días mínimo y dos semanas máximo, ocurren por lo menos una vez al mes durante doce meses continuos y no están asociados con el ciclo menstrual.
 - iv) Desorden depresivo de esquizofrenia post-psicótica: este episodio de depresión mayor ocurre en la fase residual de la esquizofrenia.

Si los desórdenes mencionados se presentan con episodios de manía (humor eufórico, anormal y persistente elevado, expansivo o irritable) alternados con episodios de depresión, se les considera desórdenes bipolares y son clasificados en: desorden bipolar tipo I, desorden bipolar tipo II, desorden ciclotímico y desorden bipolar no especificado.

1.3 Hipótesis monoaminérgicas de la depresión

Las primeras teorías acerca de la etiología de la depresión se refieren a que este padecimiento está dado por una deficiencia de monoaminas. Diversos reportes señalan que el sistema noradrenérgico y el sistema serotoninérgico se encuentran alterados en la depresión. Estos sistemas parecen tener un papel importante tanto en la fisiopatología de la depresión como en el mecanismo de acción de la mayoría de los tratamientos antidepresivos (Garlow y cols., 1999).

1.3.1 Hipótesis catecolaminérgica

Esta hipótesis propone que en la depresión hay una deficiencia importante de catecolaminas. Antes de hablar de las evidencias que apoyan esta teoría, conviene hacer una breve revisión del sistema de neurotransmisión noradrenérgico.

La noradrenalina (NA) se clasifica dentro de las catecolaminas, que son neurotransmisores que poseen un núcleo catecol (un anillo de grupo benceno con dos grupos hidroxilo adyacentes) y un grupo amino. En este grupo también se encuentran la dopamina (DA) y la adrenalina (A) (Feldman y cols., 1996). La NA se sintetiza a partir de un aminoácido aromático, la tirosina, que es hidroxilada a L-DOPA mediante una reacción catalizada por la enzima tirosina hidroxilasa (TH) y que constituye el paso limitante en la síntesis de catecolaminas. En la siguiente reacción, se forma DA a partir de L-DOPA mediante un proceso de descarboxilación; esta reacción es catalizada por la enzima L- descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos (AADC). En las neuronas dopaminérgicas éste es el paso final de la ruta biosintética, mientras que en las neuronas noradrenérgicas se necesita la incorporación de un grupo hidroxilo al grupo amino de la DA, dando lugar a la formación de NA mediante la enzima dopamina- β - hidroxilasa (DBH). Finalmente, la NA es transformada en A a través de un proceso de N-metilación en una reacción catalizada por la enzima fenil-etanol-amina n-metil-transferasa (PNMT) (Feldman y cols., 1996) (Fig. 1).

De manera general, los núcleos cerebrales que contienen NA son el *locus coeruleus*, el tracto solitario y el sistema lateral tegmental. De acuerdo a la nomenclatura propuesta por Dahlström y Fuxe (1964), los grupos celulares A₁ al A₇ corresponden a neuronas noradrenérgicas. Estos grupos neuronales proyectan sus axones a diversas estructuras del sistema nervioso central y autónomo (Feldman y cols., 1996). En particular, los cuerpos de las neuronas noradrenérgicas en el cerebro humano están localizados básicamente en el tallo cerebral, en el área conocida como *locus coeruleus* que es de donde salen las proyecciones hacia la corteza frontal y la corteza límbica.

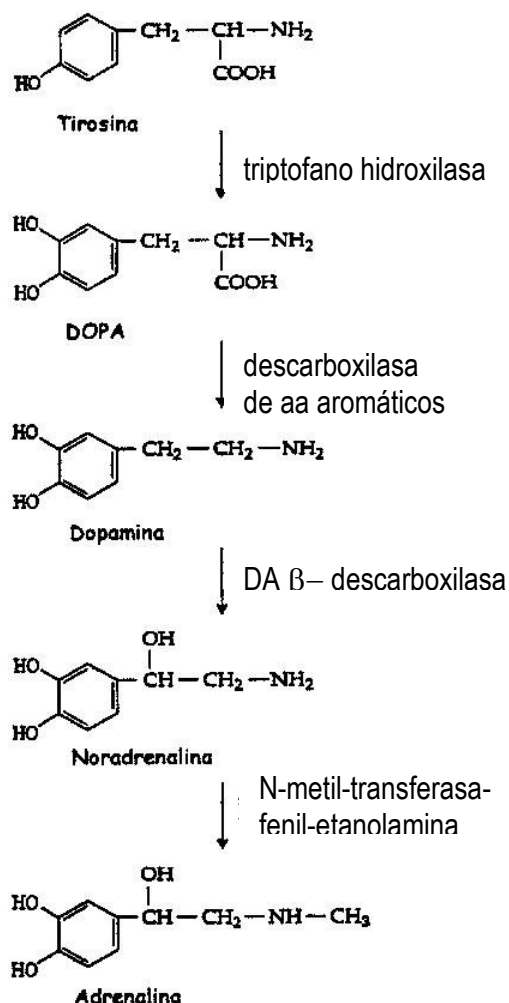


Figura 1. Síntesis de los neurotransmisores catecolaminérgicos: dopamina, noradrenalina y adrenalina.

La adrenalina actúa sobre múltiples receptores. Estos receptores poseen 7 dominios transmembranales y están acoplados a proteínas G. De manera general, se clasifican en receptores α y β , de los cuales a su vez, se pueden distinguir varios subtipos. Los receptores α se dividen en dos familias, los α_1 y los α_2 . Los α_1 se localizan post-sinápticamente, mientras que los α_2 , se encuentran tanto en la presinapsis (autorreceptores) como en la post-sinapsis. Por otro lado, los receptores β se dividen en β_1 , β_2 , y β_3 y se localizan en la post-sinapsis. Cuando los receptores son activados, los α_1 estimulan la formación de IP_3 y la movilización de Ca^{2+} intracelular, los receptores α_2 , al ser estimulados disminuyen la formación de AMPc, en tanto que los receptores β , incrementan la formación de AMPc (Feldman y cols., 1996; Stahl, 2000).

Los puntos de regulación para la síntesis de noradrenalina son: 1) la enzima tirosina hidroxilasa (TH), ésta constituye el paso limitante en la síntesis; 2) el transportador o bomba de recaptura de la NA (NAT); 3) el autorreceptor α_2 que, al ser estimulado, inhibe la liberación y síntesis del neurotransmisor; 4) la enzima monoaminaoxidasa (MAO-A) que degrada a la NA; y 5) la catecol-o-metil-transferasa (COMT) que degrada a la NA una vez que ha sido liberada al espacio sináptico.

La hipótesis catecolaminérgica de la depresión menciona, entre otras cosas, que “el estado depresivo puede estar asociado a una deficiencia de la actividad noradrenérgica en sitios cerebrales importantes, mientras que la manía puede estar asociada a un exceso del neurotransmisor” (Schildkraut, 1995). Existen varias evidencias que apoyan esta hipótesis, ya que se ha reportado que pacientes deprimidos tienen niveles más bajos del metabolito de la noradrenalina, el 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG), en comparación con individuos no deprimidos (Schatzberg y Schildkraut, 1995). Además, se ha observado que algunos individuos con depresión bipolar tipo I manifiestan síntomas de depresión cuando se les administran fármacos que disminuyen los niveles de catecolaminas (Garlow y cols., 1999). Por otro lado, individuos no deprimidos pueden presentar síntomas de depresión cuando se les administra reserpina, un inhibidor de la formación de vesículas de catecolaminas que se usa para tratar la hipertensión arterial. Asimismo, algunos pacientes deprimidos responden al tratamiento con inhibidores de la recaptura de NA, mientras que si se les depletan los niveles de NA con α -metil-p-tirosina, un inhibidor de la enzima TH, reaparecen los síntomas depresivos (Miller y cols., 1996).

Algunos estudios reportan el aumento de la densidad del receptor α_2 -adrenérgico en plaquetas de pacientes deprimidos sin tratamiento (García-Sevilla y cols., 1990). En estudios post-mortem, se ha observado un incremento en el número de receptores adrenérgicos α_2 en individuos suicidas (Meana y cols., 1992). Estos descubrimientos han llevado a proponer que la regulación elevada de los receptores α_2 es reflejo de la disminución en la actividad de las neuronas noradrenérgicas por la disminución de la liberación de NA en el SNC.

De manera interesante, varios tratamientos antidepresivos tienen como consecuencia la regulación a la baja de los receptores adrenérgicos β y/o el desacople del receptor con su sistema de transducción (Garlow y cols., 2001). Cabe mencionar, sin embargo, que existen reportes que señalan que tras la administración de antidepresivos existe una regulación a la alta de algunos sistemas de señalización celular, lo cual sugiere que tanto en la depresión como con los tratamientos antidepresivos, existen cambios plásticos cerebrales (Duman, 1999).

1.3.2 Hipótesis serotoninérgica

La serotonina es una indolamina, también llamada 5-hidroxitriptamina (5-HT). Fue aislada por primera vez por Page y colaboradores en 1976 y le dieron el nombre de serotonina porque es una sustancia vasoconstrictora liberada por las plaquetas en la sangre coagulada. La 5-HT se sintetiza a partir de su precursor, el aminoácido esencial L-triptofano por la acción de la enzima triptofano hidroxilasa, dando lugar al 5-hidroxitriptofano (5-HTP).

Este metabolito intermedio es descarboxilado por la acción de la enzima descarboxilasa de los aminoácidos L-aromáticos, formando la 5-hidroxitriptamina (5-HT) (Feldman y cols., 1996) (Fig. 2).

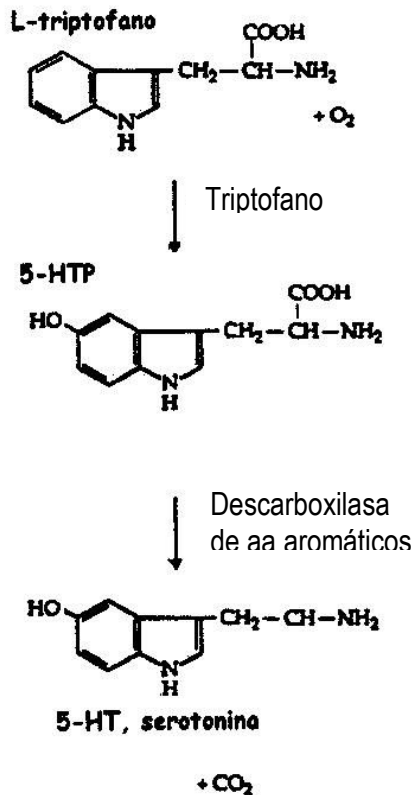


Figura 2. Síntesis de la serotonina.

Los principales grupos celulares que contienen neuronas serotoninérgicas en el humano están en el tallo cerebral en un área conocida como los núcleos del rafé, particularmente en el rafé dorsal, de donde salen proyecciones hacia la corteza frontal, a los ganglios basales, al área límbica, al hipotálamo y a neuronas descendentes hacia la médula espinal.

Se han clonado 16 tipos de receptores serotoninérgicos en diversos tejidos de mamíferos (Barnes y Sharp, 1999). Los receptores pueden diferenciarse, entre otras cosas, por sus sistemas de segundos mensajeros.

La mayoría de los receptores posee siete dominios transmembranales. Estos receptores están acoplados

a proteínas G y se dividen en siete subfamilias, (identificadas por los subíndices 1 a 7), de las cuales sólo la del receptor 5-HT₃, es ionotrópica. La subfamilia de receptores 5-HT₁ es la más grande con 5 subtipos (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} y 5-HT_{1F}), que cuando son estimulados, inhiben la actividad de la enzima adenilato ciclasa y con esto disminuyen la producción de AMPc. La familia de receptores 5-HT₂ posee tres subtipos, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}, acoplados al sistema de transducción de la fosfolipasa C (Baez y cols., 1995). De todos los receptores descritos hasta la fecha, los que se han relacionado más claramente con la depresión son los 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B} y los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}.

Los sitios de regulación de la síntesis de 5-HT son: 1) la activación del receptor 5-HT_{1A} presináptico, localizado en los somas y en las dendritas, inhibe la frecuencia de disparo neuronal; 2) la activación del autorreceptor 5-HT_{1B} que se localiza en los botones sinápticos, inhibe la liberación del neurotransmisor; y 3) el transportador de serotonina (SERT) recaptura este neurotransmisor y lo introduce a la vesícula, mientras que la enzima MAO lo degrada formando el metabolito ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA).

Se sabe que un mal funcionamiento del sistema serotoninérgico está relacionado con el desorden depresivo y que la interacción con este sistema es parte del mecanismo de acción de varios antidepresivos. Por ejemplo, se ha reportado que algunos pacientes con depresión mayor y depresión post-parto tienen niveles bajos del aminoácido L-triptofano, que es el precursor de la síntesis de serotonina (Maes y cols., 1990). De igual forma, una reducción en la disponibilidad de L-triptofano plasmático puede inducir síntomas de depresión en sujetos que han sido tratados con antidepresivos que son inhibidores de la recaptura de serotonina (ISRS) (Garlow y cols., 1999). Un efecto similar se ha reportado en individuos sanos (Delgado y cols., 1990). Otros estudios reportan niveles bajos del ácido 5 hidroxi-indolacético, (5-HIAA), el principal metabolito de la 5-HT, en individuos que intentaron o cometieron suicidio a través de medios violentos (Gibbons y Davis, 1986; Van Praag, 1982). En conjunto, estos datos sugieren que, en la depresión, los niveles de serotonina se encuentran disminuidos.

Hasta el momento, el receptor 5-HT_{1A} es el más estudiado, tanto en humanos como en animales. En el humano se ha descrito un incremento en la Bmax de este receptor en la corteza frontal de individuos que cometieron suicidio (Matsubara y cols., 1991). Asimismo, se ha reportado que fármacos que se comportan como agonistas parciales de este receptor, como la bupiriona y la gepirona, son buenos antidepresivos (Hervás y Artigas, 1998).

Por otro lado, se han realizado estudios en donde se evalúa la actividad del SERT y los niveles de algunos receptores serotoninérgicos como el 5-HT_{2A} y el 5-HT_{1A} en pacientes deprimidos. Aunque los resultados de estos estudios son variables, se ha visto que existe una disminución del número y la afinidad del transportador de serotonina en plaquetas de pacientes y en estudios post-mortem (Ellis y Salmond, 1994). En cuanto al receptor 5-HT_{2A}, se han hecho estudios en plaquetas y en el SNC que señalan un aumento en la unión máxima a este receptor en pacientes deprimidos, así como en individuos que cometieron suicidio (Biegon y cols., 1990). Se

sugiere que este aumento en el número de receptores es un mecanismo adaptativo para compensar los niveles bajos del neurotransmisor. Por otra parte, estudios realizados en animales de laboratorio reportan que el tratamiento crónico con diferentes clases de antidepresivos produce una regulación a la baja del receptor 5-HT_{2A} en el SNC (Cowen y cols., 1987).

A pesar de las evidencias mencionadas con anterioridad, en las que algunas reflejan cómo el sistema noradrenérgico y serotoninérgico influyen de manera muy importante en el establecimiento y desarrollo de la depresión, otras evidencias no son muy claras. Esto nos indica que la depresión es un trastorno muy complejo y no se sabe bien de qué forma afecta a estos sistemas, o si otros sistemas de neurotransmisión están involucrados. Por lo anterior, recientemente, algunas investigaciones se han enfocado a evaluar otros sistemas de neurotransmisión, como es el caso del sistema glutamatérgico.

1.4. Sistema glutamatérgico y depresión

El aminoácido glutamato es el principal neurotransmisor excitador del SNC. Se sintetiza a partir de la glutamina. Este neurotransmisor está involucrado en la transmisión sináptica rápida, pero también en la plasticidad y transmisión cognitiva. Hay dos familias de receptores glutamatérgicos, los ionotrópicos y los metabotrópicos. Los tres receptores ionotrópicos se distinguen farmacológicamente porque unen específicamente a los agonistas N-metil-D-aspartato (NMDA), ácido kaínico (KA) y ácido propiónico α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazole (AMPA). Con base en esto se les conoce como receptores NMDA, kainato y AMPA, respectivamente. La activación de estos receptores permite la apertura de un canal y el paso de corrientes catiónicas (Na⁺, K⁺). El receptor NMDA permite, además, la entrada de Ca²⁺ pero sólo después de que se ha dado una depolarización inicial que evita el bloqueo tónico del receptor dado por Mg²⁺. En cuanto a los receptores glutamatérgicos metabotrópicos (mGluRs) proveen otro nivel de complejidad en la respuesta a través de segundos mensajeros como el fosfoinositol (PI) y el AMPc (Cotman y cols., 1995).

El subtipo de receptor NMDA incluye dos tipos de subunidades NMDAR1 (también conocido como NR1) de las cuales han sido clonadas diversas variantes, y la familia de subunidades NR2, que está compuesta por los subtipos 2A, 2B, 2C y 2D. Las subunidades NR2 son modulatorias y no forman canales homoméricos, sino que se combinan con las subunidades NR1 para formar canales heteroméricos. En el cerebro existe una distribución amplia de la subunidad NR1, mientras que las subunidades NR2 muestran un patrón espacial y temporal diferente en el cerebro en desarrollo y en el adulto (Cotman y cols., 1995).

Recientemente, algunas investigaciones han involucrado a los receptores glutamatérgicos del subtipo NMDA en la patofisiología de la depresión mayor y el mecanismo de acción de tratamientos antidepresivos (Skolnick y cols., 1996). Varios estudios preclínicos muestran que algunos antagonistas del receptor NMDA son

efectivos en modelos animales de depresión que pueden predecir actividad antidepresiva en humanos (Layer y cols., 1995; Meloni y cols., 1993; Moryl y cols., 1993; Papp y Moryl, 1994, 1996; Przegalinski y cols., 1997; Trullas y Skolnick, 1990). Estudios *in vitro* han demostrado que fármacos antidepresivos como la imipramina, la amitriptalina y el opipramol se unen a receptores NMDA (Sills y Loo, 1989), inhiben la unión de ligandos al receptor NMDA (Reynolds y Millar, 1988) y, por lo tanto, reducen las corrientes iónicas activadas por NMDA (White y cols., 1990) y la consecuente entrada de calcio (Cai y McCaslin, 1992). Reportes *in vivo* muestran que antidepresivos como la imipramina previenen la muerte celular inducida por NMDA (Leander, 1989), y se ha sugerido que su efecto fisiológico como antagonistas NMDA está relacionado con una interacción con el sitio de glicina (Kitamura y cols., 1991; Nowak y cols., 1993).

A pesar de las evidencias de que los antagonistas de los receptores NMDA tienen actividad antidepresiva, este punto ha recibido poca evaluación clínica. Estudios preliminares con amantadina (Vale y cols., 1971; Skuza y Rogóż, 2002), un antagonista NMDA débil, y D-cicloserina, un agonista parcial del sitio de glicina insensible a estricnina del receptor NMDA (Crane, 1959, 1961), han mostrado que ambos compuestos tienen propiedades antidepresivas. De igual forma, varios laboratorios han reportado que algunos antidepresivos pueden modular la liberación y/o recaptura de glutamato (Kim, 1982; Golembiowska y Zylewska, 1999).

Otro antagonista de los receptores NMDA que ha mostrado tener propiedades antidepresivas es la ketamina (KT). A pesar de que la ketamina no se utiliza como un antidepresivo, Berman y colaboradores (2000), reportaron que pacientes deprimidos que recibieron ketamina presentaron una disminución de síntomas depresivos 3 días después de su administración. Recientemente, Kudoh y colaboradores, en el 2002, confirmaron el efecto antidepresivo de la ketamina en un estudio con pacientes sometidos a cirugía.

En conjunto, estos datos sugieren que los antagonistas NMDA pueden estar involucrados en la patogénesis de la depresión, y a diferencia de los antidepresivos que actúan a través de los sistemas adrenérgico y/o serotoninérgico, los antagonistas NMDA parecen tener un efecto inmediato, lo cual los convierte en una nueva aproximación para las terapias antidepresivas (Papp y Moryl, 1994).

1.5 Tratamiento de la depresión

El descubrimiento de los primeros fármacos con actividad antidepresiva fue de manera azarosa. En los años 50 se estaban desarrollando por un lado, un fármaco para tratar la tuberculosis (la iproniazida) y por otro, uno para tratar la psicosis (la imipramina), sin embargo se comprobó que aunque no eran eficaces en los pacientes con tuberculosis o psicosis, sí tenían efectos benéficos en pacientes deprimidos (Bush-Sanders y Mayer, 2000). Estas observaciones permitieron realizar estudios específicos enfocados a evaluar las propiedades

antidepresivas de estos compuestos y a su vez, dieron la pauta para el diseño de otros compuestos (Berman y cols., 1999). Los antidepresivos pueden clasificarse de la siguiente manera:

- Antidepresivos tricíclicos (ATC)
- Inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAO's)
- Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS's)
- Inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina (ISRN's)
- Inhibidores de la recaptura de noradrenalina y dopamina (IRND's)

Recientemente, además, se han propuesto a los antagonistas NMDA como antidepresivos de posible utilidad clínica.

Dentro de los antidepresivos tricíclicos se encuentran fármacos que en su estructura química poseen tres anillos. El mecanismo por el que actúan, es a través de inhibir la recaptura tanto de noradrenalina (NA) como de serotonina (5-HT), aunque también tienen la particularidad de bloquear receptores colinérgicos (muscarínicos), receptores a histamina del tipo 1 (H_1) y receptores α_1 adrenérgicos. Estas tres propiedades farmacológicas son las responsables de sus efectos adversos como son: hipotensión y mareos (por la interacción con receptores α_1 adrenérgicos); boca seca, visión borrosa, retención urinaria y constipación (porque interactúan con receptores muscarínicos); sedación, aumento o disminución de peso (por la interacción con los receptores H_1) (Stahl, 2000).

En este grupo se encuentran varios fármacos como la desipramina (DMI) que es un inhibidor de la recaptura de NA (Fig. 3), mientras que la clorimipramina (CMI) es preferencialmente un inhibidor del transportador de 5-HT (Fig. 4) (Stahl, 2000).

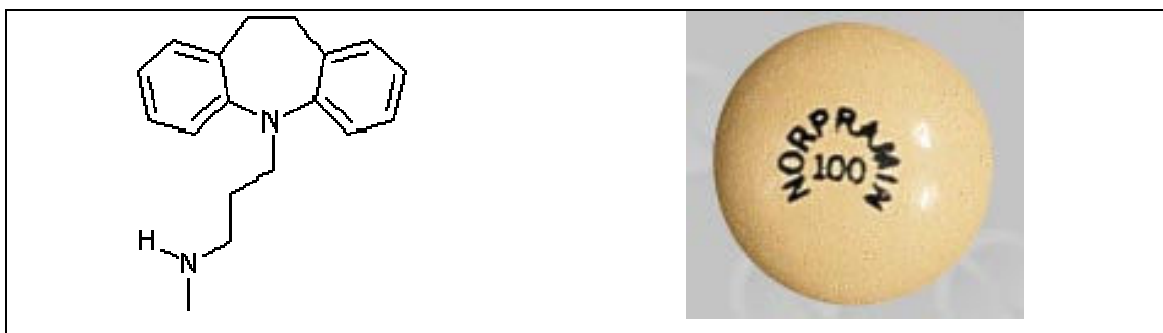


Figura 3. Estructura química del antidepresivo tricíclico desipramina y su presentación farmacéutica comercial.



Figura 4. Estructura química del antidepresivo tricíclico clorimipramina y su presentación farmacéutica comercial.

1.6. Modelos animales para el estudio de la depresión

Un modelo se define como una preparación experimental que se desarrolla en una especie con el propósito de estudiar una condición que se presente en otra especie. Dentro de los modelos animales hay un grupo conocido como simulaciones que tiene el propósito de imitar las condiciones humanas, incluyendo las patológicas. En este caso, reproducir la gran mayoría de las condiciones que se presentan en desórdenes psiquiátricos como son los signos y síntomas de un síndrome en particular (Geyer y Markou, 1995).

Willner en 1994 propone una serie de criterios para poder validar modelos animales de simulaciones los cuales incluyen:

- Criterio de validez predictiva: implica que todas las manipulaciones que modifican el estado patológico en los humanos también deben hacerlo en el modelo. Esto significa que una prueba debe ser sensible y específica para detectar fármacos con actividad terapéutica similar.
- Criterio de validez de apariencia: el modelo debe reflejar una similitud fenomenológica entre éste y los síntomas específicos que se presentan en la condición humana; es decir, no debe mostrar características que no se observen clínicamente.
- Criterio de constructo o validez hipotética: implica que las hipótesis de la etiología del trastorno, deben de servir como fundamento para el modelo.

En el caso particular de los modelos de depresión, destacan dos: el modelo de nado forzado y el de la suspensión de la cola.

1.6.1. Modelo de Nado Forzado

La prueba de Nado Forzado fue desarrollada para predecir la eficacia de fármacos antidepresivos en ratas y ratones, y consiste en forzar a ratones a nadar en cilindros con agua, de los cuales no pueden escapar. Después de un tiempo, los ratones adoptan una postura de inmovilidad claramente identificable, en donde

realizan sólo aquellos movimientos que los mantienen con la cabeza por encima de la superficie. La inmovilidad que los animales presentan frente a una situación inescapable refleja un estado de “desesperanza conductual”. Esta desesperanza es similar al estado de abandono que presenta un individuo deprimido (Porsolt y cols., 1977a, b). En la prueba de nado forzado se ha observado que el tratamiento con antidepresivos que son efectivos en humanos, disminuye el tiempo de inmovilidad en los animales, por lo que esta respuesta se considera como un efecto de tipo antidepresivo.

En el presente trabajo se empleó como modelo experimental el modelo de Nado Forzado porque cumple con los siguientes criterios de validez:

1. Criterio de validez predictiva: permite identificar fármacos con actividad antidepresiva tales como los tricíclicos, los inhibidores de la monoaminoxidasa y otros tipos de antidepresivos, a la vez que puede detectar que fármacos que no tienen actividad antidepresiva, como las benzodiazepinas, no son activos en este modelo (Cryan y cols., 2005).
2. Criterio de apariencia, porque la inmovilidad que los animales presentan en este modelo, refleja estados de ánimo bajo o desesperanza, que también se muestran en pacientes con depresión.
3. Criterio de constructo: en este modelo, al igual que lo que sucede en la depresión en humanos, una situación estresante juega un papel importante en la fisiopatología de la depresión.

Además, los datos obtenidos en este modelo son fácilmente reproducibles y las variables en estudio pueden medirse con facilidad y objetivamente.

1.6.2. Modelo de Suspensión de la Cola

Esta prueba fue elegida por representar una versión automática de la prueba de nado forzado. Fue descrita por Steru y colaboradores en 1985 y se basa en que un animal normal es sometido a una situación aversiva de la que no puede escapar en la que alterna entre dos tipos de conductas, actividad e inmovilidad. Estas pueden ser una “conducta de búsqueda” caracterizada por una actividad motriz intensa y gasto de energía, y una “conducta de desesperanza” caracterizada por inmovilidad y ahorro de energía. Los fármacos antidepresivos modifican el balance entre esas dos formas de conducta aumentando la de búsqueda. Las principales ventajas de este procedimiento son: 1) el registro de una medida objetiva; 2) la sencillez del modelo; 3) los resultados concuerdan con la prueba de Nado Forzado; y 4) es un modelo sensible a un amplio rango de dosis del fármaco.

Dos diferencias principales entre el modelo de suspensión de la cola y el modelo de nado forzado son las siguientes: 1) en la prueba de suspensión de la cola no existe el riesgo de inducción de hipotermia en ratones debido a que no hay inmersión en agua; y 2) la prueba de suspensión de la cola es sensible a dosis más bajas de fármacos antidepresivos que la prueba de nado forzado (Steru y cols., 1985).

En resumen, podemos darnos cuenta que la depresión es un trastorno que involucra varios sistemas de neurotransmisión incluyendo el sistema adrenérgico, serotoninérgico y glutamatérgico. De manera interesante el tolueno es un fármaco que presenta actividad sobre estos sistemas. Para explicar estas similitudes, en la siguiente sección se describen algunas características de este compuesto.

Capítulo 2. TOLUENO

2.1 Inhalables: Definición

El tolueno es una droga inhalable. Se definen como tales a las sustancias que son volátiles a temperatura ambiente y que se administran por inhalación con el fin de alterar la conciencia y el estado de ánimo y así alcanzar un estado alterado de conciencia (Dinwiddie, 1994).

2.1.1 Clasificación

Hay varias formas para clasificar las sustancias químicas que son sujeto de abuso por inhalación. Algunas de ellas las clasifican con base en su estructura química y otras con base en su uso comercial. Sin embargo, debido a sus perfiles farmacológicos comunes y sus efectos conductuales pueden dividirse en tres grupos (Balster, 1998):

- Alquil nitritos volátiles
- Óxido nitroso
- Disolventes volátiles, combustibles y anestésicos

2.2 Disolventes

2.2.1 Generalidades

La exposición a los disolventes puede darse por entrar en contacto con estos compuestos en condiciones laborales, por intoxicación accidental y por inhalación voluntaria. Cuando es en condiciones laborales el patrón de exposición es a bajas concentraciones (decenas o cientos de partes por millón; ppm) por periodos largos; por el contrario, cuando se tiene una exposición voluntaria es a concentraciones muy altas (miles de ppm) por periodos muy breves (Grasso y cols., 1984; Marjot y McLeod, 1989).

Los disolventes son un grupo amplio con estructuras químicas diversas. Dentro de ellos, un compuesto prototipo, y que se emplea con mayor frecuencia como droga de abuso, es el tolueno (Balster, 1998) debido a que se encuentran en productos de uso comercial, su posesión es legal, son baratos y la inhalación de sus vapores no se considera una conducta de alto riesgo. Esto los convierte en drogas de abuso de fácil acceso (Dinwiddie, 1994).

Los disolventes de abuso son sustancias que comparten algunas propiedades fisicoquímicas. En términos generales se trata de líquidos que, por sus valores de coeficiente de partición, son hidrofóbicos y de

acuerdo con sus valores de presión de vapor, son compuestos volátiles a temperatura ambiente (Berkow y cols., 1997).

2.3 Tolueno

2.3.1 Propiedades fisicoquímicas

El tolueno, metilbenceno, metilbenzol ó fenilmetano es un líquido incoloro con olor característico. Su peso molecular es de 92.13 g/mol. Tiene un densidad de 0.8669 g/cm³ a 20°C y su punto de ebullición, de 110.6°C. Tiene una solubilidad en agua de 6.5 mmol/l, a 20°C, con un coeficiente de partición sangre/aire de 11.2-15.6, a 37°C y lípidos/sangre de 81-83. Su punto de fusión es de -95°C. Posee una presión de vapor de 28.4 mm Hg a 25°C (Arlie-Søborg, 1992; ASTDR, 1994).

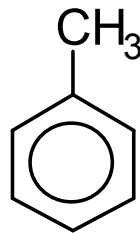


Figura 5. Estructura química del tolueno.

2.3.2 Usos

El tolueno es un hidrocarburo aromático producido principalmente durante la refinación del petróleo, pero también es un subproducto de la producción de estireno. El tolueno comercial puede contener benceno en pequeñas cantidades, ahora usualmente menos de 0.01%. La parte principal es mezclada con combustible de motor o usada en la síntesis de nitrotolueno, benceno, disocianato de tolueno y ácido benzoico. Una menor parte es empleada como disolvente. El tolueno es usado como portador de pigmentos en la industria gráfica. Se encuentra en productos de uso doméstico como el "thinner", pinturas en aerosol, pegamentos, tintas y barniz de uñas (Arlie-Søborg, 1992; Flanagan, 1994; Budavari, 1996).

2.3.3 Farmacocinética

El tolueno se absorbe fácilmente a través de los pulmones y el tracto gastrointestinal y, en menor proporción, a través de la piel. La absorción en los pulmones depende de varios factores: del volumen respirado, de la concentración en el aire y el tiempo de exposición, del coeficiente de partición (sangre/aire), del transporte vía sanguínea, la solubilidad en tejido y la tasa metabólica (Istrand, 1975; Fiserova-Bergerova, 1985).

La absorción a través de la piel es menos importante, pero bajo ciertas condiciones puede contribuir considerablemente a la absorción total. Sin embargo, la absorción por esta vía es más lenta que cuando se inhala.

La absorción por el tracto gastrointestinal es casi total, pero la concentración sanguínea máxima se alcanza de una manera más lenta que cuando se inhala (Pyykkö y cols., 1977).

En humanos el tolueno puede ser detectado en la sangre después de una exposición de sólo 10 s. Las concentraciones en sangre aumentan rápidamente durante los primeros 10 a 15 min, alcanzando un nivel completamente constante después de 25 min (Ustrand y cols., 1972). De acuerdo con Carlsson y Ljungquist (1982) la cantidad retenida se correlaciona con la cantidad de la grasa corporal.

Una vez absorbido, la cantidad de tolueno distribuida a los diferentes tejidos dependen del coeficiente de partición (tejido/sangre), de la perfusión, la duración de la exposición y la tasa de eliminación. Los coeficientes de partición son altos para la grasa retroperitoneal (113.16) y la médula ósea roja (35.43), comparados con el cerebro (3.06). Como la perfusión en el cerebro es muy alta, los lípidos cerebrales reciben cantidades considerables del disolvente (Arlie-Søborg, 1992). Algunos estudios indican que la concentración mayor de tolueno se encuentra en el cerebro, seguida del hígado y en menor concentración, en la sangre. En el cerebro, las concentraciones iniciales más altas de tolueno se encuentran en el tallo cerebral y el cerebro medio. Ya distribuido, el tolueno es biotransformado en el hígado y metabolizado por una oxidación en la cadena lateral a ácido benzoico, vía bencil alcohol y benzaldehído.

La mayor parte del ácido benzoico es conjugada con glicina y excretada en la orina como ácido hipúrico, mientras que una pequeña cantidad es conjugada con ácido glucurónico y excretada en la orina como benzoilglucurónido. Benignus (1981) sugirió que el 80% del ácido benzoico es excretado como ácido hipúrico y 20% como ácido benzoilglucurónico, mientras otros han indicado que la conjugación a ácido glucurónico en humanos es de menor importancia (Fig. 6) (Carlsson, 1982; Nomiyama y Nomiyama, 1974; Riihimäki, 1979).

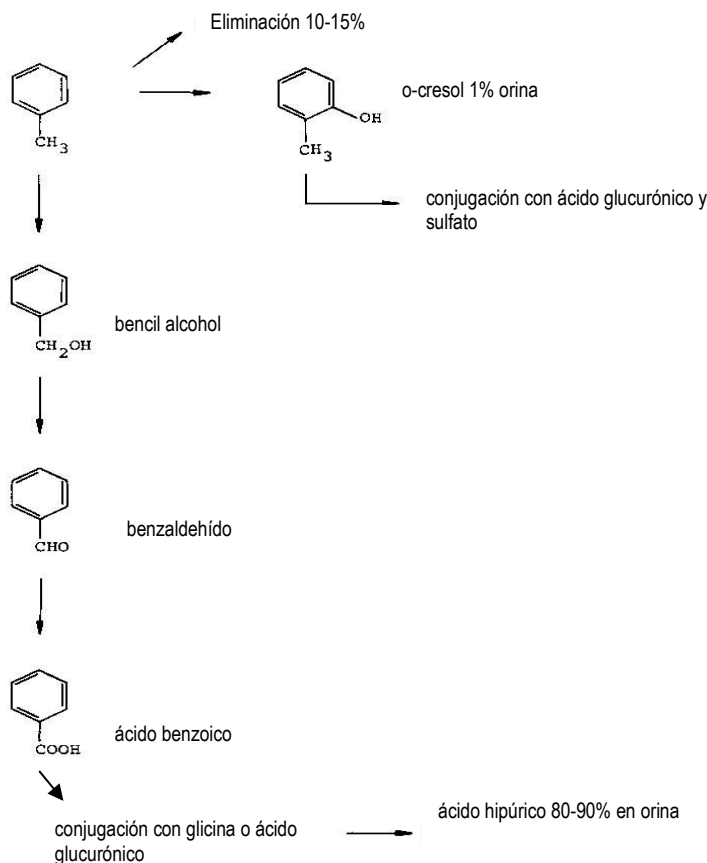


Figura 6. Ruta de biotransformación del tolueno.

2.4 El tolueno como depresor del SNC

Se han realizado relativamente pocas investigaciones sobre los efectos de la inhalación aguda de concentraciones altas de disolventes durante periodos cortos con el objetivo de simular lo que ocurre cuando se abusa de estas sustancias. Algunos de los avances que se han realizado están basados en las evidencias que muestran que algunos disolventes producen efectos conductuales y farmacológicos similares a los fármacos depresores clásicos del SNC (Balster y Moser, 1987), que incluyen a los barbitúricos, sedantes no-barbitúricos, benzodiazepinas y el alcohol. Entre estos efectos podemos mencionar los que se enlistan a continuación:

2.4.1 Efectos sobre la actividad locomotora espontánea

Los estudios de actividad locomotora en los que se ha utilizado tolueno reflejan un efecto bifásico en ratones, donde concentraciones bajas (500-1800 ppm) aumentan la actividad locomotora y exposiciones a concentraciones más grandes (3000 ppm) disminuyen la actividad (Kjellstrand y cols., 1985; Wood y Colotla,

1990). Estos efectos también se han descrito para otras drogas depresoras del SNC como los barbitúricos y las benzodiazepinas (Evans y Balster, 1991).

2.4.2 Efecto ansiolítico

Se sabe que el tolueno produce un efecto ansiolítico que ha sido evaluado en varios modelos experimentales de ansiedad. Por ejemplo, en el laberinto elevado en forma de cruz, los animales pasan más tiempo en los brazos abiertos que en los cerrados (Bowen y cols., 1996). En el de Geller-Seifter (Geller y cols., 1983), los ratones se acercan más a un estímulo aversivo y en el modelo de conducta defensiva de enterramiento, los ratones expuestos a tolueno entierran menos un electrodo (estímulo aversivo), después de recibir un choque eléctrico de baja intensidad, que los animales control (Lopez-Rubalcava y cols., 2000). En estos modelos el tolueno es más potente como ansiolítico que otros disolventes como el benceno, tricloroetano (TCE) y éter dietílico (Paez-Martínez y cols., 2003)

2.4.3 Efectos anticonvulsivantes

En estudios en los que se utilizó el agente proconvulsivante pentilentetrazol (PTZ), un antagonista de los receptores GABA_A (ácido γ -aminobutírico), se encontró que cuando se administra tolueno i.p. o por inhalación a ratones, aumenta la latencia de presentación de convulsiones además de proteger contra los efectos letales del PTZ (Wood y cols., 1984). En otro estudio se utilizó otro agente proconvulsivante, el ácido N-metil-D-aspartico (NMDA), que es un agonista glutamatérgico, y se observó que la inhalación de tolueno (1000 a 6000 ppm) durante 30 minutos protege contra las convulsiones y la muerte a ratones inyectados con NMDA (Cruz y cols., 2003).

2.4.4 Propiedades estímulo-discriminativas

En estos experimentos se entrena a los animales durante varias sesiones para que discriminen entre los efectos de la administración de un fármaco y la de un vehículo. Una vez que el animal recibe el fármaco de referencia, el animal aprende a presionar una palanca para obtener comida, mientras que después de la administración del vehículo, la obtiene sólo cuando presiona la otra palanca. Bajo este esquema se prueba la sustancia en estudio con el fin de determinar si los animales perciben sus efectos como similares o diferentes a los del fármaco de referencia. Si el fármaco probado produce un estímulo similar al de entrenamiento, se dice que lo sustituye por lo que se asume que sus efectos son similares (Iversen e Iversen, 1981). Se han examinado las propiedades estímulo-discriminativas de algunos disolventes; entre ellos se ha evaluado a ratones entrenados para discriminar inhalaciones o inyecciones de tolueno o un vehículo. En ese estudio, Rees y colaboradores en 1987 reafirmaron que el tolueno comparte propiedades de estímulo con barbitúricos como el pentobarbital y

benzodiazepinas como el oxazepam, pero no con otros fármacos como la morfina. Esto confirma las evidencias de las similitudes a la intoxicación de los depresores clásicos del SNC.

2.4.5 Efectos reforzantes del tolueno

Existen varios modelos animales para el estudio de las propiedades reforzantes de compuestos en los que se busca identificar una conducta que simule un efecto placentero o de “recompensa” y que provoca que esta conducta se refuerce teniendo mayor probabilidad de que se repita (Nestler y cols., 2001). En el modelo de autoadministración, Weiss y colaboradores (1979) utilizaron monos ardilla y encontraron que el tolueno actuaba como un reforzador positivo de la conducta, mientras que en el modelo de preferencia espacial condicionada Funada y colaboradores, en 2002, así como Gerasimov y su grupo, en 2003, demostraron en ratones y ratas, respectivamente, que el tolueno en concentraciones de 700 a 5000 ppm, produce efectos de reforzamiento, es decir, los animales despliegan una conducta para auto-administrarse la sustancia. Finalmente, en el modelo de estimulación intracraneal, el tolueno también demostró efectos reforzantes a concentraciones de 3600 y 7200 ppm en ratas (Bespalov y cols., 2003).

2.4.6 Conducta operante

Se ha observado que los efectos agudos de algunos disolventes sobre la conducta operante, particularmente de los hidrocarburos aromáticos, son muy similares a los de las sustancias depresoras del SNC. En estos experimentos se usa una respuesta específica, como presionar una palanca, que es seguida por un reforzante como recibir un “pellet” de comida (Evans y Balster, 1991). Esto permite que los animales aprendan a identificar estímulos diferentes y así poder comparar compuestos.

Se investigó que la inhalación de tolueno tiene efectos bifásicos sobre la conducta bajo control de varios programas de reforzamiento, mostrando que a bajas concentraciones de tolueno (1000 ppm) aumenta la tasa de intervalo fijo en ratones y ratas, mientras que a concentraciones altas (2000-3000 ppm) esas tasas disminuyeron (Glowa, 1981; Glowa y cols., 1983). Estas investigaciones proporcionan evidencias adicionales que apoyan las similitudes entre algunos disolventes y depresores del SNC.

2.4.7 Efectos sobre la nocicepción

Recientemente, se ha estudiado el efecto del tolueno sobre la nocicepción (dolor evaluado en animales) mediante el modelo de la plancha caliente y el de pinzamiento de la cola, y se encontró que el tolueno es un compuesto pronociceptivo, y este efecto es mayor que el visto con otros disolventes (Cruz y cols., 2001; Páez-Martínez y cols., 2003).

2.4.8 Tolerancia

El estudio de los efectos del tolueno tras administraciones repetidas ha mostrado variaciones; mientras algunos estudios muestran que el tolueno produce tolerancia, en otros se ha reportado que existe sensibilización, también llamada tolerancia inversa, y en otros tantos se ha mostrado que no se producen efectos. Entre estos estudios podemos mencionar el trabajo de Himnan (1984) que demostró que en ratas se desarrolla tolerancia, al inhalar tolueno (1000 ppm) de manera crónica, que se manifiesta como disminución de la actividad locomotora y menor número de las exploraciones al aire que el animal realiza (rearing), en comparación con lo que se observa en los animales expuestos una sola vez. Es decir, que provoca la disminución en la magnitud de las respuestas y un cambio en la curva concentración-efecto. Por otro lado, también se identificó una sensibilización al tolueno reflejada en un aumento en las respuestas y cambios en la curva concentración-efecto. Sin embargo, existe otro estudio en ratones expuestos repetidamente a tolueno (6000 ppm) en el que no hubo tolerancia a su efecto sobre la conducta operante, pero si se observó una sensibilidad al tolueno (Moser y Balster, 1981). Taylor y Evans en 1985 utilizando monos, tampoco pudieron demostrar tolerancia a los efectos conductuales del tolueno. En resumen, no existen estudios concluyentes acerca de la capacidad del tolueno de inducir tolerancia.

2.5 Mecanismo de acción del tolueno

El mecanismo de acción de los disolventes se comenzó a estudiar sólo recientemente. De acuerdo a estudios conductuales realizados con animales de laboratorio y observando el proceso de intoxicación de los usuarios en humanos, se estableció que los disolventes tenían efectos similares a los de los depresores del SNC, como los barbitúricos, las benzodiazepinas y el alcohol (Evans y Balster, 1991). Con base en esto se propuso que estas sustancias podrían compartir algunos mecanismos de acción. Los estudios de la última década indican que el tolueno, que es el disolvente mejor estudiado, tiene un mecanismo de acción similar al del alcohol. Los resultados se resumen a continuación.

2.5.1 Efectos sobre receptores glutamatergicos

Se han estudiado los efectos de diferentes disolventes sobre los subtipos de receptores a glutamato (véase sección 1.4), en particular sobre los NMDA (NR1/2B, NR1/2A y NR1/2C) y no-NMDA (GluR1, GluR1/GluR2 y GluR6). Debido a esto se determinó que el tolueno es capaz de inhibir las corrientes iónicas inducidas por la activación de los receptores glutamatergicos NMDA de manera dependiente de la dosis con una concentración inhibitoria al 50% de 0.17 Mm. También el tolueno fue el más potente en dicha inhibición comparado con los demás disolventes. Esta inhibición es no competitiva y los receptores no-NMDA (AMPA y

kainato) no se inhiben a concentraciones superiores a 10 mM (Cruz y cols., 1998; 2000). Esto indica que existe un efecto diferencial sobre subtipos de receptores glutamatérgicos.

2.5.2 Efectos sobre sistema noradrenérgico

Se detectó que tras la administración de tolueno, las concentraciones de NA están incrementadas en el bulbo raquídeo, cerebro medio e hipotálamo, así como niveles aumentados de su metabolito el 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) en el hipotálamo (Rea y cols., 1984; Arito y cols., 1985; Riegel y cols., 1999).

2.5.3 Efectos sobre receptores 5-HT

Algunas evidencias muestran que el tolueno influye sobre el sistema serotoninérgico. Rea y colaboradores en 1984, en un estudio en ratas en el que analizaron las concentraciones de 5-HT en todo el cerebro después de la inhalación de tolueno (0-1000 ppm), determinaron un incremento significativo en la liberación de 5-HT en algunas regiones cerebrales, como el cerebelo, el bulbo raquídeo y el estriado. Por otro lado, Arito y colaboradores (1985) encontraron que la administración i.p. de tolueno (100 y 200 mg/kg) produce insomnio e hiperactividad que está asociada con concentraciones bajas de serotonina en la corteza frontal, hipocampo y en el cerebro medio.

El subtipo de receptor 5-HT₃, es el único receptor serotoninérgico ionotrópico y es blanco de acción del etanol, por lo cual ha sido también foco de interés en la evaluación del mecanismo de acción de los disolventes. Recientemente, Lopreato y colaboradores estudiaron el efecto del tolueno sobre los receptores 5-HT₃ expresados en ovocitos de rana y encontraron que el tolueno aumenta las corrientes activadas por la serotonina de manera reversible y dependiente de la dosis, en concentraciones menores a 1 mM (Lopreato y cols., 2003).

2.5.4. Otros efectos

El tolueno también influye sobre otros sistemas de neurotransmisión como el dopaminérgico, el GABAérgico y el glicinérgico. Se sabe que tras la inhalación de tolueno hay un aumento en la concentración de dopamina (DA) en el estriado (Rea y cols., 1984; Arito y cols., 1985; Riegel y cols., 1999). Se ha estudiado el efecto del tolueno sobre los receptores GABA_A y glicina, encontrando que aumenta de forma reversible las corrientes inhibitorias mediadas por el receptor GABA_A en concentraciones de ~0.2-0.9 mM. En este estudio se observó que los disolventes actúan como moduladores alostéricos de los receptores GABA_A (subtipo $\alpha_1\beta_1$) y glicina (α_1) (Beckstead y cols., 2000).

Capítulo 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Con base en los antecedentes presentados se plantea la siguiente hipótesis:

3.1 Hipótesis

Dado que el tolueno influye sobre sistemas de neurotransmisión implicados en la regulación de la depresión (noradrenérgico, serotoninérgico y glutamatérgico), es posible que presente efectos antidepresivos. De existir dicho efecto, se espera un sinergismo con el antidepresivo que comparta el mismo mecanismo de acción.

3.2 Objetivo General

- Analizar en dos modelos experimentales de depresión el posible efecto antidepresivo del tolueno y compararlo con los efectos de dos antidepresivos clásicos y un antagonista NMDA.
- Estudiar la posible facilitación de los efectos antidepresivos del tolueno con la combinación de antidepresivos con diferente mecanismo de acción.

3.2.1 Objetivos Particulares

- Analizar el efecto de diferentes concentraciones de tolueno en el modelo de Nado Forzado y en el modelo de Suspensión de la Cola.
- Analizar el efecto de diferentes dosis de los antidepresivos desipramina (DMI), clorimipramina (CMI) y ketamina (KT) en el modelo de Nado Forzado y en el de Suspensión de la Cola.
- Analizar la posible facilitación antidepresiva de concentraciones subefectivas de tolueno con dosis subefectivas de DMI, CMI o ketamina en el modelo de Nado Forzado y Suspensión de la Cola.

Capítulo 4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Animales

Se utilizaron ratones macho de la cepa Swiss Webster de 25 a 35 g de peso, los cuales se mantuvieron a una temperatura constante (20-25°C) y ciclo normal de luz:oscuridad (inicio de luz a las 7 h). Los animales se alojaron en cajas, en grupos de 10, con libre acceso al agua y alimento por lo menos 24 h antes de iniciar un experimento.

4.2 Sustancias

En este proyecto se utilizó un disolvente de abuso: el tolueno (Baker, 99.75%). Los animales se expusieron a diversas concentraciones de tolueno (1000, 2000 y 4000 ppm).

Los animales fueron tratados solamente una vez con los siguientes fármacos antidepresivos: desimipramina (DMI; Sigma) a dosis de 2.5, 5 y 10 mg/kg; clorimipramina (CMI; Sigma) en dos dosis de 5 y 10 mg/kg, y ketamina (KT; Sigma) a dosis de 6.25, 12.5, 25 y 50 mg/kg. Los fármacos CMI y DMI se disolvieron en solución salina al 0.9 % y se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen constante de 5 ml/kg con una serie de inyecciones a tres tiempos: 24 h, 5 h y 1 h antes de la prueba de depresión. Los animales control recibieron únicamente el vehículo (salina) de la misma manera. La ketamina se disolvió en solución salina y se administró una hora antes de someter a las animales a los modelos de depresión. Con el fin de poder comparar los animales con los grupos control, estos últimos recibieron dos administraciones de solución salina 24 h y 5 h antes de las pruebas conductuales. Por cada dosis se probaron diez ratones como mínimo. Se realizaron curvas dosis-respuesta para determinar las dosis de compuestos antidepresivos a emplear en el proyecto.

4.3 Exposición a Disolventes

Para la exposición a los vapores del disolvente, o aire para los grupos control, se utilizó una cámara de exposición estática de 29 l. Esta cámara está compuesta por una jarra cromatográfica con una tapa de acrílico. La tapa tiene puertos de inyección en la parte externa y un ventilador cuyas aspas proyectan hacia el interior de la cámara. Bajo las aspas se encuentra una malla metálica en la que se coloca un papel filtro. El disolvente se inyecta a través del puerto de inyección y se deposita sobre el papel filtro.

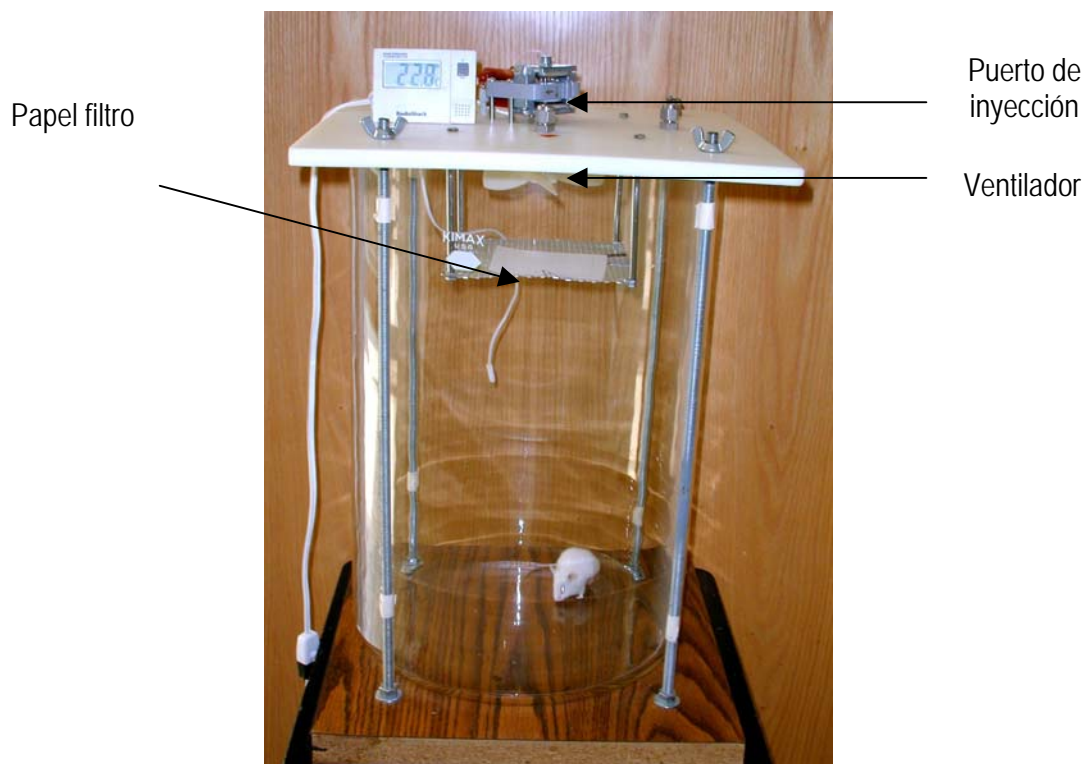


Figura 7. Cámara de exposición a disolventes. Una vez que se coloca al ratón en la cámara, ésta se cierra. A continuación se deposita un volumen determinado de disolvente en el papel filtro, con ayuda de una jeringa a través del puerto de inyección. Posteriormente se enciende el ventilador, para volatilizar y homogeneizar el disolvente.

Para la exposición al disolvente, cada ratón se colocó de manera individual en el fondo de la cámara, se colocó la tapa, se inyectó una concentración predeterminada de tolueno y se encendió el ventilador para volatilizarlo y distribuirlo homogéneamente dentro de la cámara. Las concentraciones de vapor deseadas se alcanzan en un tiempo menor a 1 min y permanecen constantes durante el tiempo de exposición (30 min). La cámara de exposición se localiza dentro de una campana de extracción para evitar la inhalación de los vapores por parte del investigador.

La concentración del disolvente que debe ser administrado se determinó mediante la ecuación de Nelson para sistemas estáticos cerrados (Nelson, 1971):

$$V_L = \frac{(PM) (C_{ppm}) (V_s)}{d} \cdot \frac{P(10)^{-6}}{RT}$$

Donde:

V_L = volumen del disolvente a inyectar en la cámara (ml)

PM = peso molecular del disolvente (g/mol)

C_{ppm} = Concentración deseada (ppm)

V_s = volumen de la cámara de exposición (l)

d = densidad del disolvente (g/ml)

P = presión atmosférica (atm)

R = constante de los gases (l atm mol⁻¹ K⁻¹)

T = temperatura (K)

4.4 Modelos experimentales

4.4.1 Modelo de nado forzado

Las características básicas de este modelo ya se describieron en el apartado 1.6.1. En la práctica, consiste en una sesión de 5 min en la que se coloca a un ratón en un cilindro de plástico (19 cm de altura X 10 cm de diámetro) con 12 cm de agua a una temperatura de 25 °C. El animal es sometido a un espacio restringido en el que no puede tocar el fondo del cilindro y tampoco puede escapar. Al cabo de unos minutos de verse forzado a nadar, gradualmente reduce sus movimientos hasta que realiza sólo aquellos que le permiten mantener la nariz fuera del agua y respirar. A esta reducción o ausencia de movimientos, se le denomina conducta de inmovilidad. La prueba se videografa y posteriormente se revisa. El observador registra el tiempo de inmovilidad presentado por el animal a intervalos de 1 min. De esta forma, se obtiene el tiempo de inmovilidad por cada minuto y el tiempo acumulado al final de los primeros 5 minutos. Los animales se sacrifican al término de la prueba.

4.4.2 Modelo de suspensión de la cola

El modelo está basado en la observación de un ratón suspendido por la cola en un columpio mediante una cinta adhesiva (véase apartado 1.6.2). La prueba tiene una duración de 5 min, se videografa y posteriormente se revisa. El observador registra el tiempo de inmovilidad presentado por el animal a intervalos de 1 min. De esta forma, se obtiene el tiempo de inmovilidad por cada minuto y el tiempo acumulado al final de los primeros 5 minutos. Los animales se sacrifican al término de la prueba.

4.5 Análisis estadístico

Antes de realizar las pruebas de hipótesis se verificó si los datos pasaban la prueba de la normalidad. Como en general esto no sucedió, se aplicaron pruebas no paramétricas. Las comparaciones entre los grupos tratados y el control en los mismos ratones se hicieron con la prueba de Kruskal Wallis, seguida por una prueba post hoc de Dunn. Todos los análisis se hicieron con el programa Sigma-Stat (Versión 3).

Capítulo 5. RESULTADOS

Para elegir las dosis de los compuestos antidepresivos y de tolueno a emplear en el proyecto se realizaron curvas de dosis-respuesta para cada sustancia. Posteriormente, se combinaron las dosis subefectivas de los antidepresivos con el tolueno, en experimentos individuales, en dos modelos de depresión.

5.1 Efecto de la administración de un inhibidor de la recaptura de noradrenalina (DMI), un inhibidor de la recaptura de serotonina (CMI) y un antagonista de los receptores NMDA (KT) en el modelo de Nado Forzado.

La figura 8 muestra el efecto de la administración del antidepresivo DMI. En el panel A se grafica el curso temporal durante los primeros cinco minutos de la prueba de nado forzado; es decir, el tiempo de inmovilidad en función del tiempo de experimentación. El panel B muestra el tiempo de inmovilidad acumulado (expresado en segundos) en los cinco minutos que dura la prueba. Como se observa, la DMI no tiene efecto a la dosis de 2.5 mg/kg, en contraste, las dosis de 5 mg/kg y 10mg/kg producen un claro efecto antidepresivo que se manifiesta como una reducción del tiempo acumulado de inmovilidad en comparación con el grupo control. A partir de esas dosis se determinó que la dosis subóptima de DMI fue la de 2.5 mg/kg.

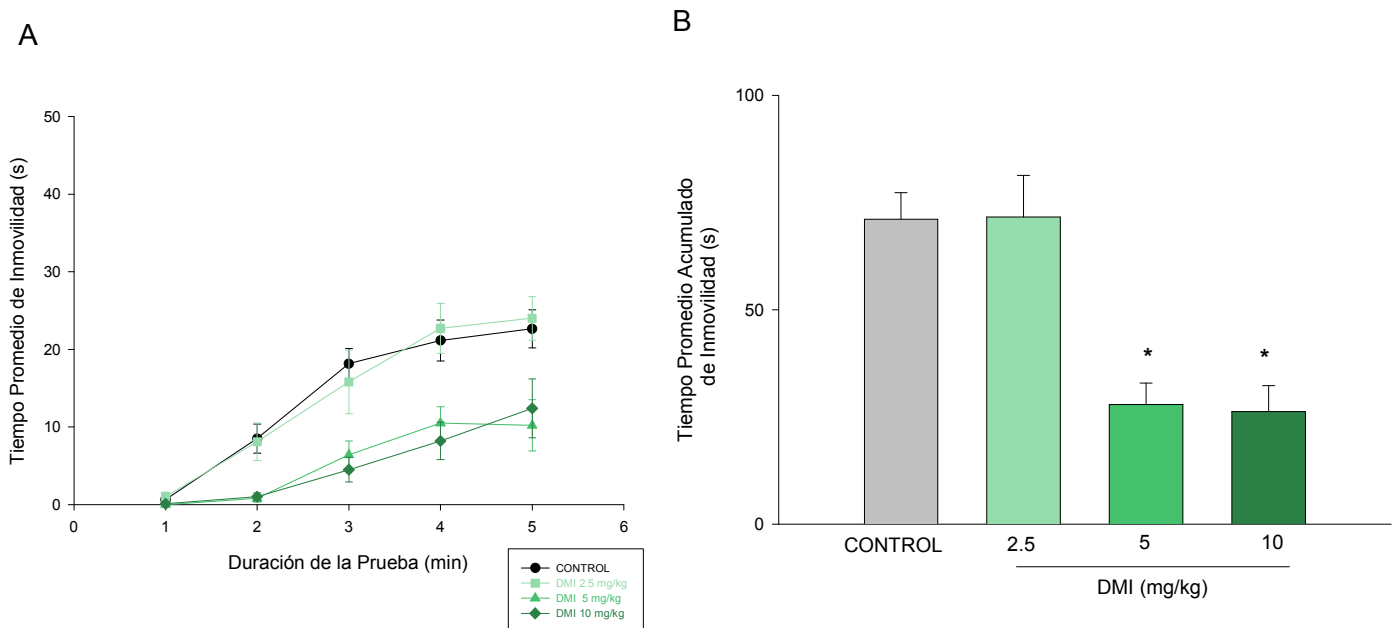


Figura 8. Efecto de la desipramina (DMI) en el modelo de nado forzado. (A) tiempo de inmovilidad cada minuto, (B) tiempo acumulado en cinco minutos. Los puntos/barras representan el promedio \pm el e.e. de un mínimo de 10 ratones. Dunn, * $p < 0.05$.

En la figura 9 se muestra el efecto del antidepresivo CMI (inhibidor de la recaptura de serotonina). Los datos se expresan únicamente como el tiempo acumulado de inmovilidad en los 5 min que dura la prueba ya que el curso temporal fue muy similar al que se describió en la figura 8 para la DMI. Como puede observarse, la CMI, a la dosis de 5 mg/kg no tuvo efecto en el tiempo de inmovilidad, por lo tanto fue considerada como la dosis subóptima. Por otro lado, la dosis de 10 mg/kg sí produjo una disminución significativa del tiempo de inmovilidad.

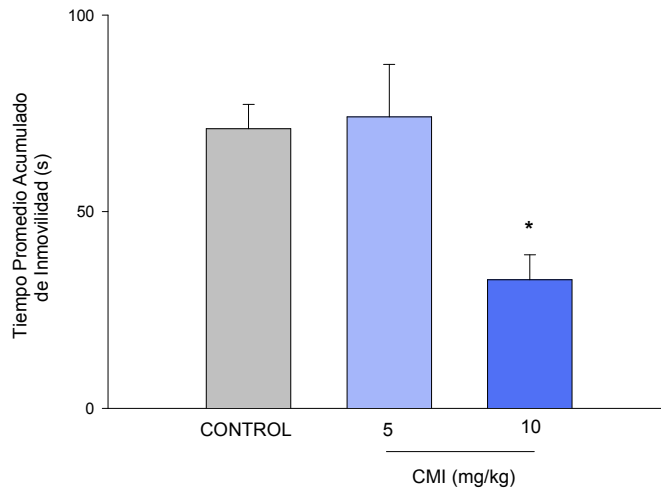


Figura 9. Efecto de la exposición subcrónica de clorimipramina (CMI) sobre el tiempo de inmovilidad acumulado en cinco minutos en la prueba de nado forzado. Cada barra representa el promedio \pm el error estándar de un mínimo de 10 ratones. * $p < 0.05$, Dunn.

En la figura 10 se muestra el efecto de tres diferentes dosis de ketamina (KT), un antagonista de los receptores NMDA en el modelo de nado forzado. Como se observa, la ketamina a la dosis de 6.25 mg/kg no presenta un efecto antidepresivo, sin embargo, a dosis de 12.5 y 25 mg/kg presentó un claro efecto antidepresivo, manifestado como una disminución en el tiempo de inmovilidad. A partir de estos resultados se escogió la dosis subóptima para combinarla con el tolueno.

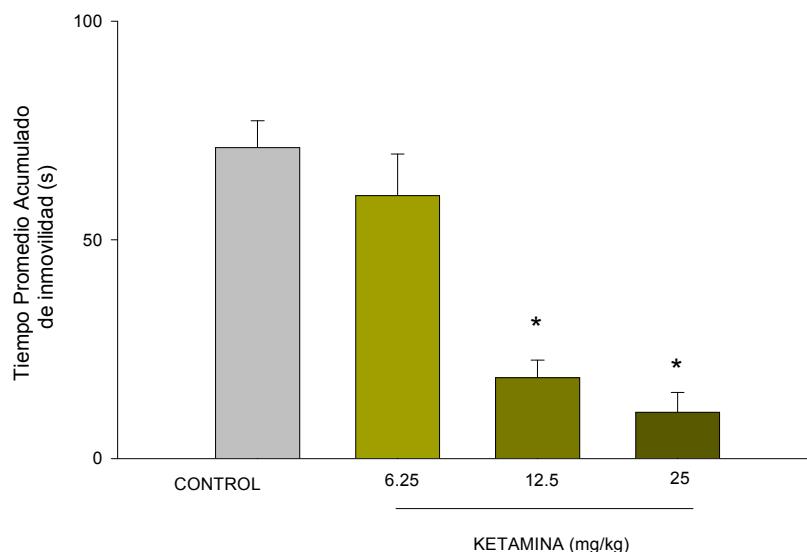


Figura 10. Promedio \pm el e.e. del tiempo de inmovilidad acumulado en cinco minutos, en la prueba de nado forzado, en animales tratados con diferentes dosis de ketamina. * $p < 0.05$, Dunn.

5.2 Efecto de la administración de tolueno en el modelo de Nado Forzado.

En otra serie experimental se analizó el posible efecto antidepresivo del tolueno en la prueba de nado forzado. En la Fig. 11 se muestran los efectos de la exposición durante 30 min a tres concentraciones distintas de tolueno. Como se observa, el tolueno a 2000 y 4000 ppm presentó un claro efecto tipo antidepresivo, manifestado como una disminución dependiente de la concentración del tiempo de inmovilidad en los ratones. A la concentración de 1000 ppm no tuvo efecto, por lo que se considero como concentración subefectiva.

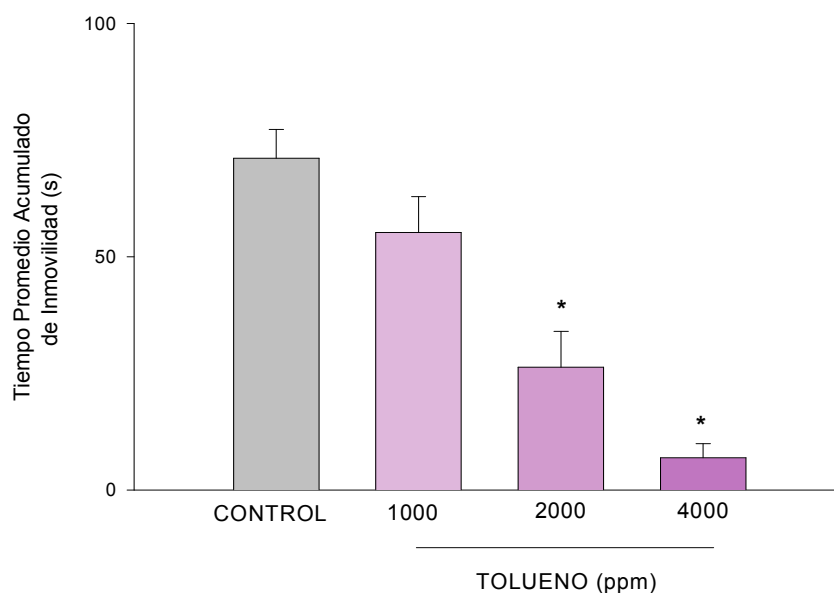


Figura 11. Efecto del tolueno en el modelo de nado forzado. Efectos observados sobre el tiempo acumulado en cinco minutos. Cada barra representa el promedio \pm el e.e. de un mínimo de 10 ratones. * $p < 0.05$; Dunn.

5.3 Efecto de la combinación de dosis subóptimas de los compuestos antidepresivos con tolueno.

En la figura 12 se esquematiza el efecto de la combinación de una dosis subóptima de DMI (2.5 mg/kg) con una concentración subefectiva de tolueno (1000 ppm). Esta combinación, no presentó efectos sinérgicos, ya que no hubo ni suma ni potenciación de efectos (Fig. 12A). Lo mismo ocurrió para el caso de la combinación de CMI (5mg/kg) y tolueno (1000 ppm) (Fig. 12B). Contrario a estos resultados, y como se muestra en la figura 12C, la co-administración de una dosis subefectiva de ketamina (6.25 mg/kg) y una concentración subefectiva de tolueno (1000 ppm), produjo una disminución estadísticamente significativa en el tiempo de inmovilidad.

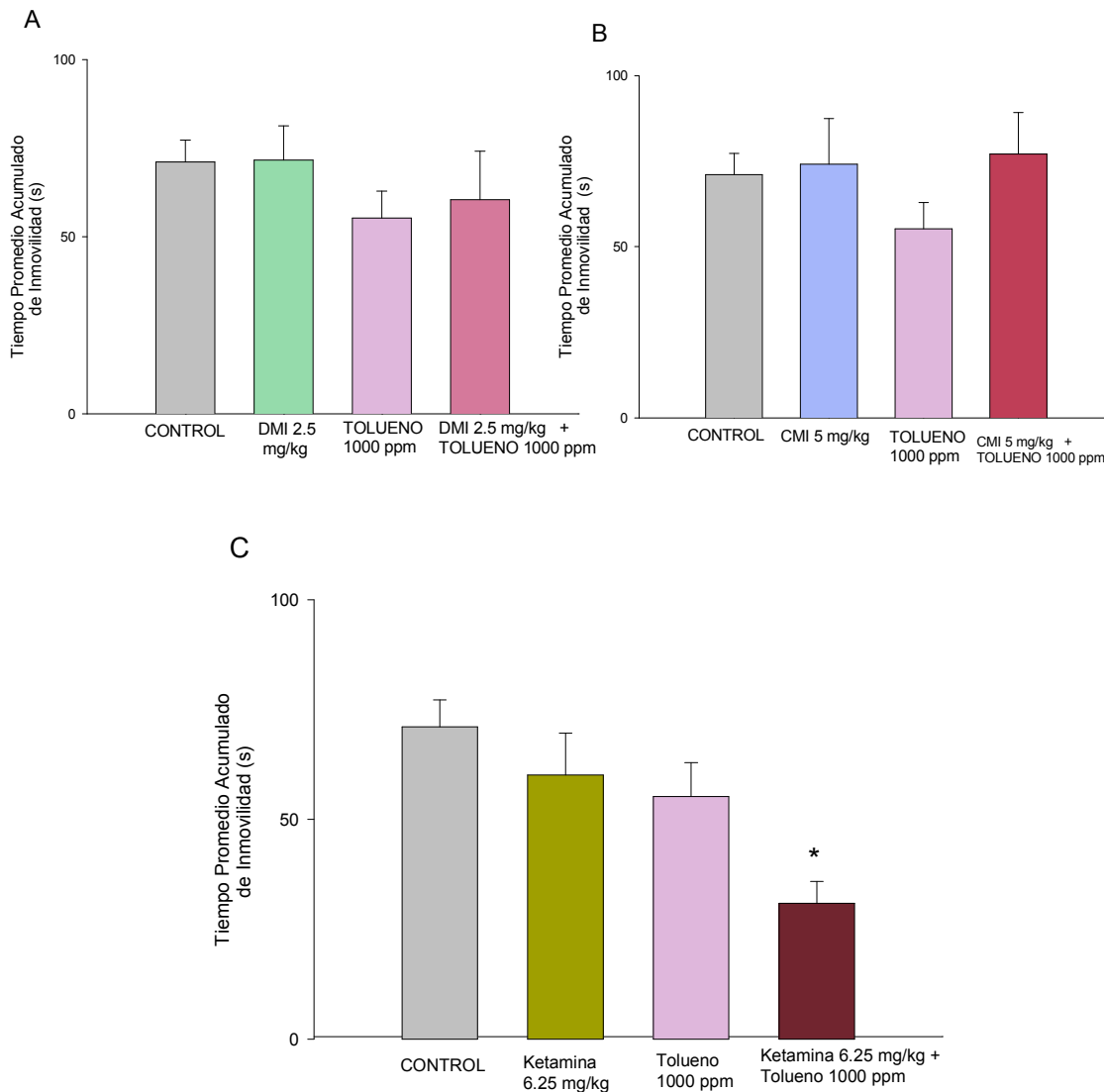


Figura 12. Promedio \pm el e.e. del tiempo de inmovilidad acumulado en cinco minutos, en ratones tratados con una concentración subefectiva de tolueno (1000 ppm) y una dosis subefectiva de DMI (2.5 mg/kg) (A), en B se muestra la administración conjunta de tolueno (1000 ppm) y CMI (5 mg/kg) y en C la combinación de tolueno (1000 ppm) y una dosis subefectiva de ketamina (6.25 mg/kg). Dunn, * $p < 0.05$.

5.4 Efecto de la administración de los antidepresivos en el modelo de Suspensión de la cola.

En la figura 13, se muestra el efecto del antidepresivo desipramina (DMI), que es un inhibidor de la recaptura de noradrenalina, en el modelo de suspensión de la cola. Se observó que las dosis de 2.5 y 5 mg/kg tienden a disminuir la conducta de inmovilidad del animal, aunque no son estadísticamente significativas; mientras que a la dosis de 10 mg/kg esta conducta disminuye significativamente ($P < 0.05$).

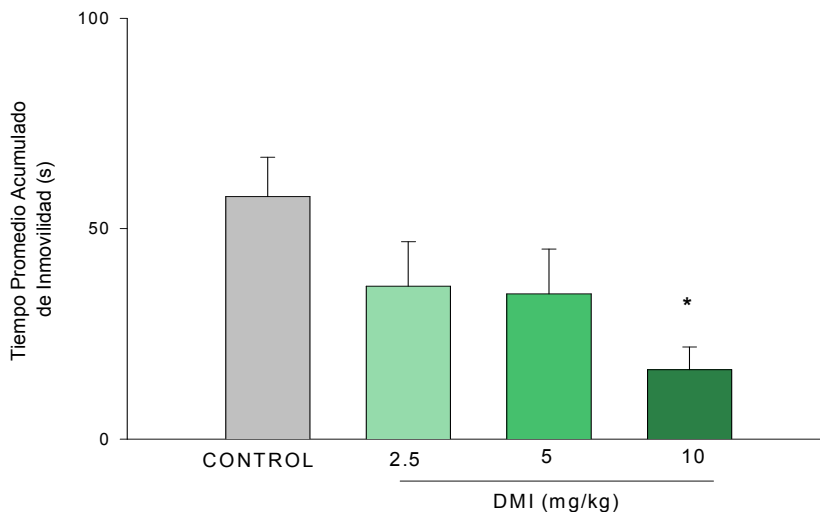


Figura 13. Efecto de la desipramina (DMI) en el modelo de suspensión de la cola. Tiempo acumulado en cinco minutos. Las barras representan el promedio \pm el e.e. de un mínimo de 10 ratones. Dunn, * $p < 0.05$.

La figura 14 muestra el efecto del inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina, la CMI. En este caso se observó que las dosis probadas no produjeron efectos estadísticamente significativos, sin embargo, se observó una tendencia a la disminución en la conducta de inmovilidad a la dosis de 10 mg/kg.

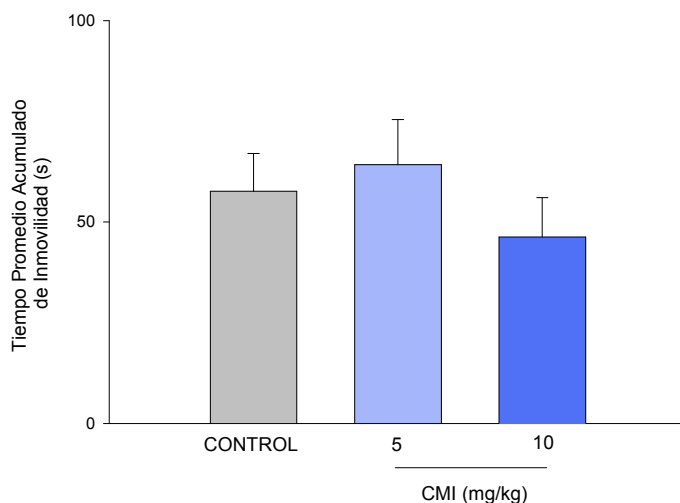


Figura 14. Efecto de la exposición subcrónica de clorimipramina (CMI) sobre el tiempo de inmovilidad acumulado en cinco minutos, en la prueba de suspensión de la cola. Cada barra representa el promedio \pm el error estándar de un mínimo de 10 ratones. Kruskal-Wallis

Como puede observarse en la figura 15, la ketamina, a la dosis de 12.5 mg/kg no modificó la conducta depresiva, lo mismo ocurrió para la dosis de 25 mg/kg, aunque, se observa una clara disminución en el tiempo de inmovilidad que no alcanza a ser estadísticamente significativa. Sin embargo, la dosis de 50 mg/kg disminuyó significativamente el tiempo de inmovilidad ($P < 0.05$).

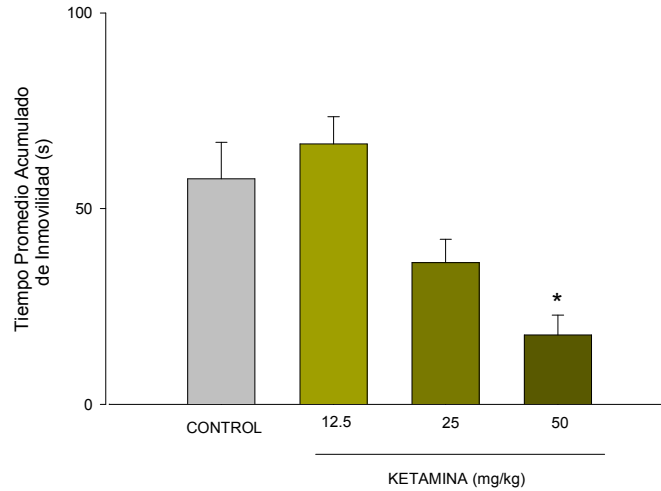


Figura 15. Tiempo de inmovilidad acumulado en cinco minutos, en ratones tratados con ketamina, en la prueba de suspensión de la cola. Los datos representan los valores promedio \pm el error estándar de un mínimo de 10 ratones. Dunn, * $p < 0.05$

5.5 Efecto de la exposición a tolueno en el modelo de Suspensión de la cola.

Una vez determinadas las dosis de los antidepresivos, se evaluó el efecto del tolueno (Fig. 16). En este caso se observó que las concentraciones de 500 y 1000 ppm no tuvieron efecto significativo sobre la conducta de inmovilidad, sin embargo, las concentraciones de 2000 y 4000 ppm sí disminuyeron la conducta de inmovilidad, significativamente con respecto a su control ($P < 0.05$).

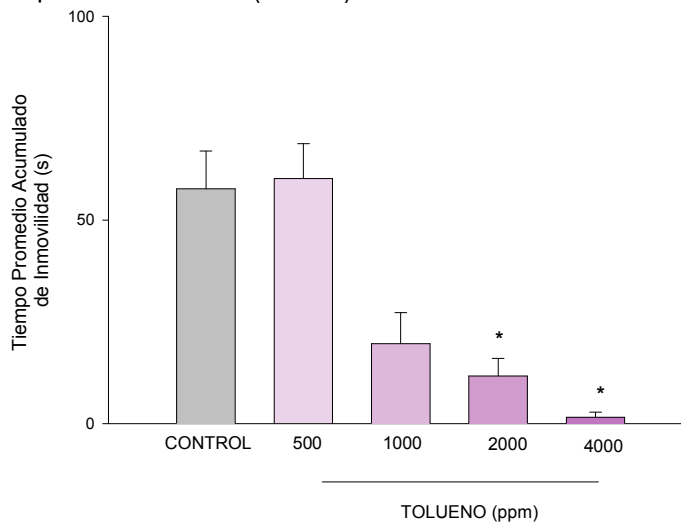


Figura 16. Efecto del tolueno en el modelo de suspensión de la cola. Efectos observados sobre el tiempo acumulado en cinco minutos. Cada barra representa el promedio \pm el e.e. de un mínimo de 10 ratones. * $p < 0.05$; Dunn.

5.6 Efecto de la combinación de dosis subóptimas de los antidepresivos y de tolueno en el modelo de suspensión de la cola.

La figura 17 muestra el efecto de la administración conjunta de DMI 2.5 mg/kg con tolueno 500 ppm (A) y de CMI 5 mg/kg con tolueno 500 ppm (B) en animales que fueron sometidos al modelo de suspensión de la cola. Como puede observarse, ninguna de las dos combinaciones produjo una disminución significativa del tiempo que los animales estuvieron inmóviles. Contrario a estos resultados, la administración conjunta de ketamina 12.5 mg/kg con tolueno 500 ppm (C) disminuyó de manera estadísticamente significativa el tiempo de inmovilidad, efecto que no se presentó al administrar los compuestos de manera individual.

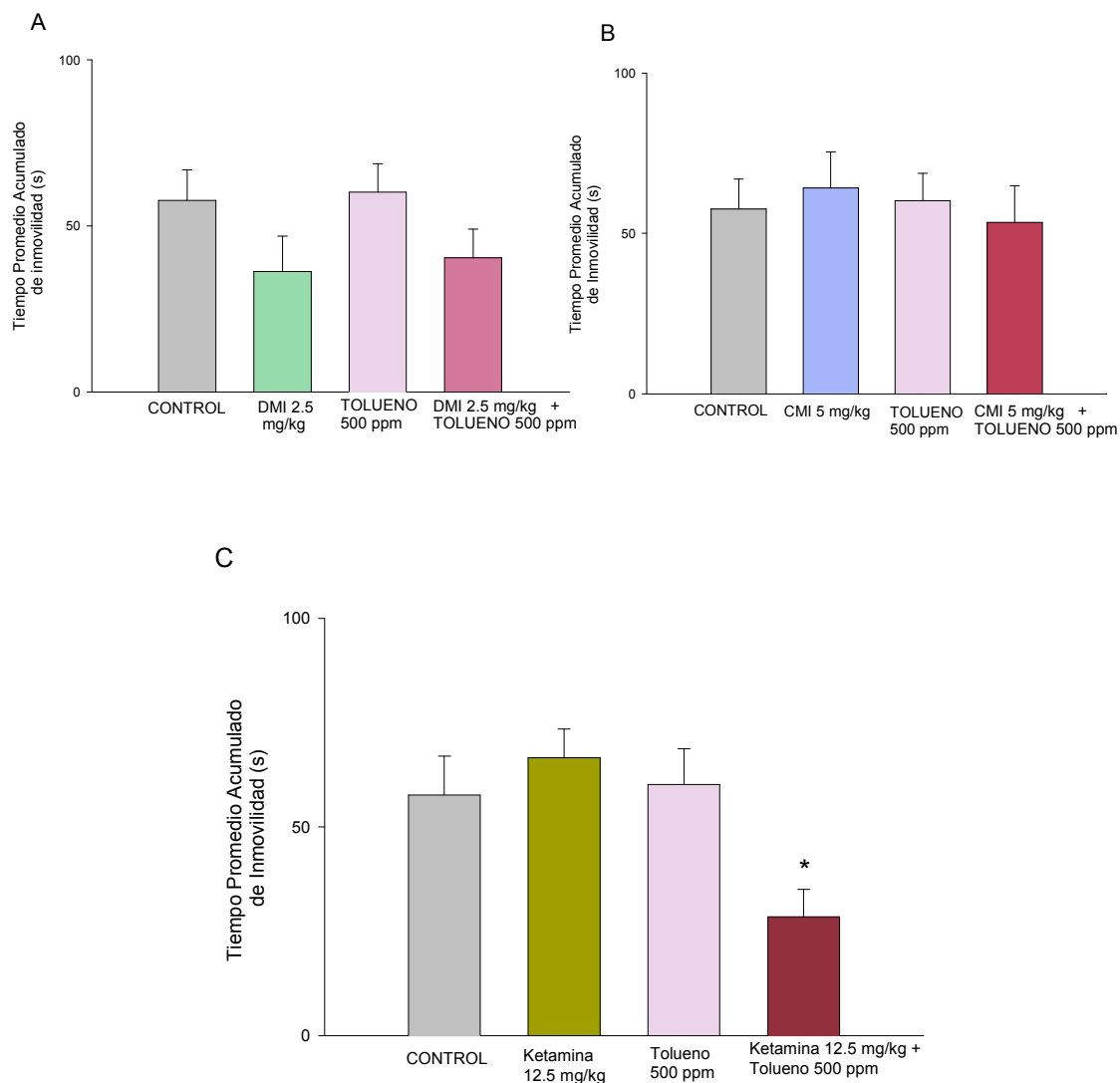


Figura 17. Efecto de la administración conjunta de tolueno (500 ppm) + DMI (2.5 mg/kg) (Panel A), tolueno (500 ppm) + CMI (5 mg/kg) (Panel B) y tolueno (500 ppm) + ketamina (12.5 mg/kg) (Panel C) sobre el tiempo de inmovilidad acumulado en cinco minutos, en el modelo de suspensión de la cola. Cada barra representa el promedio \pm el error estándar de un mínimo de 10 ratones. Dunn, * $p < 0.05$.

Capítulo 6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El primer objetivo del presente estudio fue investigar las posibles propiedades antidepresivas del tolueno, ya que se ha reportado que este compuesto tiene actividad noradrenérgica, serotoninérgica y como antagonista glutamatérgico y existen fármacos antidepresivos, como la DMI, la CMI y la KT, que actúan sobre estos sistemas de neurotransmisión, respectivamente. En este sentido, los resultados obtenidos pueden resumirse de la siguiente manera:

1. Los antidepresivos desipramina, clorimipramina y ketamina tuvieron actividad tipo antidepresiva en los dos modelos de depresión. Sin embargo, el efecto de CMI no fue estadísticamente significativo en el modelo de suspensión de la cola.
2. El tolueno tuvo un efecto tipo antidepresivo dependiente de la concentración, en ambos modelos de depresión.

El segundo objetivo fue combinar dosis subefectivas de los compuestos para ver si existía potenciación de sus efectos. En este aspecto, no se observó una facilitación o sinergismo cuando se administraron de manera conjunta los antidepresivos DMI o CMI con tolueno, sin embargo, la combinación de tolueno con ketamina reflejó una facilitación significativa en los dos modelos de depresión utilizados.

La revisión de la literatura indica que éste es el primer estudio que ha evaluado las propiedades antidepresivas del tolueno a concentraciones efectivas en diversas pruebas conductuales y que son compatibles con las alcanzadas durante una intoxicación (Bowen y cols., 2006). Como ya hemos mencionado, el tolueno es un antagonista de los receptores NMDA y, aunque no se había estudiado ni éste ni ningún otro disolvente, ya se había descrito el efecto antidepresivo de otros antagonistas NMDA (Vale y cols., 1971; Skuza y Rogóz, 2002).

Los efectos antidepresivos del tolueno se probaron en dos modelos animales que cumplen con criterios que los validan como modelos de depresión. El criterio de validez predictiva se cumple en ambos modelos porque se pueden identificar fármacos con propiedades antidepresivas, y existe una correlación significativa entre la potencia clínica y la potencia de los fármacos en estos modelos. Además, los modelos permiten discriminar compuestos que no tienen actividad antidepresiva como las benzodiazepinas. Por otro lado, ambos modelos cumplen con el criterio de constructo debido a que en ellos inducen estrés lo que se compara con el hecho de que el estrés juega un papel importante en la fisiopatología de la depresión. Finalmente, cumplen con el criterio de validez de apariencia porque la inmovilidad de los animales en este modelo, refleja un estado de desesperanza conductual, lo cual también se observa en pacientes con depresión (Porsolt y cols., 1977a, b; Steru y cols., 1985;

Cryan y cols., 2005). La diferencia entre estos dos modelos es básicamente de sensibilidad. Es importante usar los dos porque de otra manera es posible dejar de observar efectos antidepresivos de fármacos a los que una de las pruebas puede ser poco sensible. Por ejemplo, en nuestro estudio observamos que la prueba de suspensión de la cola no identifica a la CMI como un compuesto eficaz, mientras que la de nado forzado sí lo hace. Cabe mencionar que estos datos también han sido reportados por el grupo de Fujishiro (2002).

En nuestro caso, el tolueno presentó efectos tipo antidepresivo en ambas pruebas, ya que disminuyó gradualmente el tiempo de inmovilidad. Aunque los otros compuestos también redujeron el tiempo de inmovilidad, sólo fueron eficaces después de una administración subcrónica. Por lo tanto, una diferencia importante con ellos es que el tolueno, al igual que la ketamina, tiene efecto tipo antidepresivo después de una sola administración. Es importante señalar que usar los antidepresivos tricíclicos (DMI y CMI) como compuestos de referencia tiene varias ventajas, ya que se emplean clínicamente en terapias contra la depresión, se conoce su mecanismo de acción, se han usado en varios estudios y han probado su eficacia en los modelos de depresión usados en este estudio.

A continuación mencionaré algunas evidencias encontradas por otros investigadores que coinciden con nuestros resultados. Varios grupos han descrito que la DMI, un inhibidor de la recaptura de noradrenalina, atenúa la inmovilidad inducida en la prueba de nado forzado tanto en ratones como en ratas (Porsolt y cols., 1977a, 1978; Noda y cols., 1997, Wongwitdechcha y cols., 2006). Efectos similares se encontraron en el modelo de suspensión de la cola (Chermat y cols., 1986; Nomura y cols., 1991 y Crowley y cols., 2004). Más aún, Steru y colaboradores (1985) reportaron que las dosis efectivas de DMI en el modelo de suspensión de la cola se encontraban en el rango de 1-32 mg/kg lo cual es compatible con nuestros datos.

De la misma manera Hyttel (1994) y más recientemente Yamada y Sugimoto (2002), demostraron que la CMI, un inhibidor preferente de la recaptura de 5-HT, reduce el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado. Como ya se mencionó, el grupo de Fujishiro (2002) no encontró efecto en la prueba de suspensión de la cola con diferentes dosis de CMI (0-40 mg/kg).

Las propiedades antidepresivas de la ketamina han sido evaluadas sólo recientemente. Así, encontramos que Berman y su grupo (2000) encontró que disminuían los síntomas depresivos en pacientes tratados con ketamina. En otro estudio realizado por Hayase en el 2006 se evaluó la actividad antidepresiva de ketamina en la prueba de nado forzado obteniendo resultados negativos. Estos datos contrastan con los nuestros, pero es importante mencionar que la metodología utilizada por este grupo fue diferente ya que utilizaron la cepa de ratones ICR y dosis altas de ketamina (100 mg/kg). Hay que destacar que a pesar de que los antagonistas a los receptores NMDA tienen propiedades antidepresivas, aún no se utilizan con fines terapéuticos para el tratamiento de la depresión. En apoyo a nuestros datos, Kos y colaboradores (2006), encontraron que la ketamina tenía

efecto antidepresivo y era capaz de producir potenciación al combinarse con MDL 72222 (un antagonista del receptor 5-HT₃) en el modelo de suspensión de la cola.

Como ya se mencionó anteriormente, la importancia de este estudio radica en la observación de que el tolueno tiene propiedades antidepresivas y que este efecto es dependiente de la concentración. Una vez que realizamos las curvas dosis-respuesta de cada compuesto, nos pareció interesante realizar las combinaciones del tolueno con cada uno de los antidepresivos a concentraciones / dosis subefectivas. Esto se hizo porque el tolueno tiene actividad sobre varios sistemas de neurotransmisión y al combinarlo con otros compuestos un poco más selectivos, podría obtenerse una potenciación que aportara datos sugerentes de su mecanismo de acción.

Nuestros resultados muestran que la co-administración de las dosis subefectivas de los antidepresivos DMI o CMI con tolueno no produjo efecto antidepresivo, lo cual sugiere que el tolueno no ejerce su acción antidepresiva directamente sobre las vías noradrenérgicas y serotoninérgicas a pesar de que incrementa la liberación de NA y 5-HT en ciertas regiones cerebrales. Se ha reportado que la CMI muestra efectos sinérgicos al combinarse con un antagonista del receptor 5-HT₂ (Yamada y Sugimoto, 2002). Es importante mencionar esto, porque podemos decir que en nuestro trabajo, el tolueno no actúa principalmente sobre el sistema serotoninérgico.

Por otro lado, el tolueno es un antagonista no competitivo NMDA (Cruz y cols., 1998). Nuestros resultados demuestran que al combinarlo con otro antagonista NMDA como la ketamina (KT), se potencia el efecto de disminución de la inmovilidad inducida en ratones sometidos a la prueba de nado forzado y a la prueba de suspensión de la cola. Estos datos apoyan la hipótesis de que los antagonistas NMDA reducen la inhibición conductual inducida por estrés en una situación inescapable.

Para estar seguros de que la disminución de inmovilidad producida por el tolueno no era un falso positivo derivado de un aumento inespecífico de la actividad locomotora (Porsolt y cols., 1977; Steru y cols., 1985), nuestro grupo realizó una serie de experimentos en el modelo de campo abierto que tiene una duración de 5 min, en los que se cuenta el número de veces que un animal cruza las líneas marcadas en el piso de una caja de acrílico de ciertas dimensiones. Los resultados encontrados mostraron que en los primeros dos minutos el tolueno sí produjo un aumento en la actividad pero este efecto desapareció a partir del tercer minuto. En contraste, analizando minuto a minuto el efecto del tolueno en ambos modelos de depresión, encontramos que la actividad se mantenía alta de principio a fin. Esto descarta que el efecto del tolueno sea inespecífico.

En nuestro estudio elegimos usar tolueno ya que hay una alta comorbilidad entre la depresión y la dependencia de drogas en humanos (Myers y cols., 1984; Robins y Regier, 1991; Kessler y cols., 1994). Desde

una perspectiva clínica, existen estudios que apoyan la hipótesis de que la depresión y la dependencia a algunas drogas son desórdenes ligados entre sí. Por un lado, se sabe que el tratamiento con antidepresivos mejora el ánimo y reduce el uso de algunos tipos de drogas (Markou y cols., 1998). Por ejemplo, estudios con pacientes alcohólicos deprimidos muestran tasas muy bajas de recaída cuando reciben un tratamiento con antidepresivos (Nunes y cols., 1993; Cornelius y cols., 1995; Mason y cols., 1996; McGrath y cols., 1996). Cabe mencionar, sin embargo, que es muy difícil establecer si la depresión antecede al consumo de drogas o es consecuencia de éste.

Tomando en cuenta que el alcohol tiene muchas propiedades que comparte con el tolueno, posiblemente exista una población que inhale disolventes que contienen tolueno para disminuir la depresión, al menos inicialmente, aunque también se sabe que las personas que inhalan de manera crónica son más propensas a tener episodios de depresión mayor e intentos de suicidio que los que no han inhalado estos compuestos (Sakai y cols., 2004; Ridenour, 2005). Esto nos indica que probablemente el tolueno en un principio produzca una disminución de los síntomas de la depresión y que al continuar inhalándolo este efecto se pierde, provocando una recaída en la depresión. Para determinar la validez de esta hipótesis, sería muy interesante administrar tolueno de manera crónica, para saber si se desarrolla tolerancia a su efecto antidepresivo. El presente trabajo abre una nueva línea de investigación no sólo para el tolueno, sino también para otros disolventes. En estudios futuros convendría analizar la relación de la inhalación de otros compuestos inhalables pertenecientes a diferentes grupos químicos y la depresión.

REFERENCIAS

- Arlien-Søborg P. *Solvent Neurotoxicity*. CRC Press. Boca Raton, Florida. Pp. 61-106, 1992.
- Arito H, Tsuruta H, Nakagaki K, Tanaka S. Partial insomnia, hiperdipsia induced by repeated administration of toluene in rats: their relation to brain monoamine metabolism. *Toxicology*. 37:99-110, 1985.
- Strand I, Ehrner-Samuel H, Kilbom I, and Övrum P. Toluene exposure. I. Concentration in alveolar air and blood at rest and during exercise. *Work Environ. Health*, 9, 119, 1972.
- Strand I. Uptake of solvents in the blood and tissues of man. *Scand. J. Work Environ. Health*, 1, 199, 1975.
- ATSDR. Agency for toxic substances and disease registry. U.S. Department of health and human services. Toxicological profile for toluene. Atlanta, Georgia. Pp. 1-111, 1994.
- Baez M, Kursar J, Helton L, Wainscott D, Nelson D. Molecular biology of serotonin receptors. *Obesity Res* 3:441S-447S, 1995.
- Bale AS, Smothers CT, Woodward JJ: Inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by the abused solvent, toluene. *Br J Pharmacol*. 137:375-383, 2002.
- Balster RL. Neural basis of inhalant abuse. *Drug and Alcohol Dependence*. 51:207-214, 1998.
- Balster RL, Moser VC: Pentobarbital discrimination in the mouse. *Drug Alcohol Depend*. 7:233-242; 1987.
- Barnes N, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*. 38:1083-1152, 1999.
- Beckstead MJ, Weiner JL, Eger EI, Gong DH, Mihic SJ: Glycine and γ -aminobutyric acid_A receptor function is enhanced by inhaled drugs of abuse. *Mol Pharmacol*, 57:1199-1205, 2000.
- Benignus VA. Health effects of toluene: a review, *Neurotoxicology*, 2, 567, 1981.
- Benignus VA: Neurobehavioral effects of toluene: a review. *Neurobehav Toxicol Teratol*, 3:407-415, 1981.
- Berman RM, Capiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS and Krystal JH. Antidepressant Effects of Ketamine in Depressed Patients, *Biol Psychiatry*, 47:351-354, 2000.
- Berkow R, Fletcher AJ: El manual Merck. Novena Edición. Ed. Harcourt Brace de España, 1997. pp 3122 .
- Bespalov A, Sukhotina I, Mendvedev I, Malyshkin A, Belozertseva I, Balster RL, Zvartau E: Facilitation of electrical brain self-stimulation behaviour by abused solvents. *Pharmacol Biochem Behav*. 75:199-208, 2003.
- Biegón A, Grinspoon A, Bleich A, Apter A, Mester R. Increased serotonin 5-HT₂ receptor binding on blood platelets of suicidal men. *Psychopharmacology*. 100:165-167, 1990.
- Bowen SE, Wiley JL, Balster RL: The effects of abused inhalants on mouse behaviour in an elevated plus-maze. *Eur J Pharmacol*. 312:131-136, 1996.
- Bowen SE, Batis JC, Paez-Martínez N, Cruz SL. The last decade of solvent research in animal models of abuse: Mechanistic and behavioral studies. *Neurotoxicology and Teratology*. In Press, 2006.
- Budavari S., editor. *The Merck Index*. Twelfth edition. Merck and Co. U.S.A. pp. 1626, 1642-1643, 1996.
- Bush-Sanders and Mayer. En: Goodman and Gilman: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. McGraw-Hill Interamericana, México. Pp:265-280, 2000.
- Cai Z, McCaslin PP. Amitriptyline, desipramine, cyproheptadine and carbamazepine, in concentrations used therapeutically, reduce kainite- and N-methyl-D-aspartate-induced intracellular Ca²⁺ levels in neuronal culture. *Eur J Pharmacol*. 219, 53, 1992.
- Carlsson A. Exposure to toluene. *Scand. J. Work Environ. Health*. 8, 43, 1982.
- Carlsson A, and Ljungquist E. Exposure to toluene. *Scand. J. Work Environ. Health*, 8,56, 1982.
- Chermat R, Thierry B, Mico JA, Steru L, Simon P. Adaptation of the tail suspension test to the rat. *J Pharmacol* 17, 348-350. 1986.
- Cornelius JR, Salloum IM, Cornelius MD, Perel JM, Ehler JG, Jarrett PJ, Levin RL, Black A, Mann JJ. Preliminary report: double-blind, placebo-controlled study of fluoxetine in depressed alcoholics. *Psychopharmacol Bull*. 31(2):297-303, 1995.
- Cowen PJ, Charig EM, Fraser S, Elliott JM. Platelet 5-HT receptor binding during depressive illness and tricyclic antidepressant treatment. *J Affect Disord*. 13:45-50, 1987.
- Crane GE. Cycloserine as an antidepressant agent. *Am J Psychiatry* 115:1025-1026, 1959.
- Crane GE. The psychotropic effects of Cycloserine: A new use for an antibiotic. *Compr Psychiatry*. 2:51-59, 1961.
- Crowley JJ, Jones MD, O'Leary OF, Lucki I. Automated tests for measuring the effects of antidepressants in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 78, 269-274, 2004.
- Cruz SL, Mirshahi T, Thomas B; Balster RL; Woodward JJ: Effects of the abused solvent toluene on recombinant N-Methyl-D-Aspartate and non-N-Methyl-D-Aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J Pharmacol, Exp Ther.*, 286:334-340, 1998.
- Cruz SL, Balster RL; Woodward JJ: Effects of volatile solvents on recombinant N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Br J. Pharmacol*. 131:1303-1308, 2000.
- Cruz SL, Paez-Martínez N, Pellicer F, Salzar LA, Lopez-Rubalcava C: Toluene increases acute thermoreception in mice. *Behav Brain Res*, 120:213-20, 2001.
- Cruz SL, Gauthereau MY, Camacho-Munoz C, Lopez-Rubalcava C, Balster RL. Effects of inhaled toluene and 1,1,1-trichloroethane on seizures and death produced by N-methyl-D-aspartic acid in mice. *Behav Brain Res*. 140:195-202, 2003.

- Cryan JF, Mombereau C, and Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29: 571-625, 2005.
- Dahlstrom A, Fuxe K. Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia*. 20(7):398-399, 1964.
- Delgado D, Charney D, Price L, Landis H, Henninger G. Neuroendocrine and behavioural effects of dietary tryptophan restriction in healthy subjects. *Life Sci*. 45:2323-2332, 1990.
- Dinwiddie SH. Abuse of inhalants: a review. *Addiction*. 89: 925-939, 1994.
- DSM-IV. Pierre P. editor. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Masson. 1995
- Duman R. The neurochemistry of mood disorders: preclinical studies. En: Charney D, Nestler E, Bunney B (eds). *Neurobiology of Mental Illness*, 1st edn. Oxford University Press pp 333-347, 1999.
- Ellis P, Salmond C. Is platelet imipramine binding reduced in depression? A meta- analysis. *Biol Psychol*. 36:292-299, 1994.
- Evans EB, Balster RL: CNS Depressant Effects of Volatile Organic Solvents. *Neuroscience & Behavioral Reviews*, 15: 233-241, 1991.
- Feldman R, Meyer J, Quenzer L. Principles of Neuropsychopharmacology. Sinauer pp. 909, 1996.
- Fiserova-Bergerova V. Toxicokinetics of organic solvents. *Scand. J. Work Environ. Health*, 11 (Suppl. 1), 7, 1985.
- Flanagan RJ. Volatile substance abuse. *Bulletin on Narcotics*. 46 (2): 49-78, 1994.
- Fujishiro J, Imanishi T, Onozawa K, Tsushima M. Comparison of the anticholinergic effects of the serotonergic antidepressants, paroxetine, fluvoxamine and clomipramine. *Eur J Pharmacol*. 15;454(2-3):183-8. 2002.
- Funada M, Sato M, Makino Y, Wada K. Evaluation of rewarding effect of toluene by the conditioned place preference procedure in mice. *Brain Res Proctoc*. 10(1): 47-54, 2002.
- García-Sevilla J, Padro D, Giralto M, Guimon J, Areso P. Alpha 2-adrenoceptor-mediated inhibition of platelet adenylate cyclase and induction of aggregation in major depression. Effect of long-term cyclic antidepressant drug treatment. *Arch Gen Psychiat*. 47: 125-132, 1990.
- Garlow S, Musselman D, Nemeroff C. The neurochemistry of mood disorders: clinical studies. En: Charney D, Nestler E, Bunney B (eds). *Neurobiology of mental illness* 1st edn. Oxford University Press. pp 348-364, 1999.
- Gauthereau MY, Cruz SL, Orta-Salazar G, Millan-Perez-Peña L, Salinas-Stefanon E: Toluene inhibits sodium currents from human cardiac sodium channels transfected into *Xenopus laevis* oocytes. *Drug Alcohol Depend* (en prensa).
- Geller I, Hartmann RJ, Mendez V, Gaus EM: Toluene inhalation and anxiolytic activity: Possible synergism with diazepam. *Pharmacol Biochem Behav*, 19:899-903,1983.
- Gerasimov MR, Schiffer WK, Marsteller D, Ferrieri R, Alexoff D, Dewey SL: Toluene inhalation produces regionally specific changes in extracellular dopamine. *Drug Alcohol Depend*, 65:243-251, 2002.
- Gerasimov MR, Collier L, Ferrieri A, Alexoff D, Lee D, Gifford AN, Balster RL.: Toluene inhalation produces a conditioned place preference in rats. *European Journal of Pharmacology*, 477:45-52, 2003.
- Geyer M and Markou A. Animal models of psychiatric disorders. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*, Raven Press, Ltd., New York, pp: 787-790, 1995.
- Gibbons R, Davis J. Consistent evidence for biological subtype of depression characterized by low CSF monoamine levels. *Act Psychiat Scand*. 74:8-12, 1986.
- Glowa JR: Some effects of subacute exposure to toluene on schedule-controlled behaviour. *Neurobehav Toxicol Teratol* 3:463-465; 1981.
- Glowa JR, DeWesse J, Natale M Holland JJ, Dews PB: Behavioral toxicology of volatile organic solvents I. Methods: Acute effects. *J Am Coll Toxicol*. 2:175-185, 1983.
- Golembiowska K, Zylewska. Effect of antidepressant drugs on veratridine-evoked glutamate and aspartate release in rat prefrontal cortex. *Pol J Pharmacol*. 51:63-70, 1999.
- Grasso P, Sharratt M, Davies DM, Irvine D. Neurophysiological and psychological disorders and occupational exposure to organic solvents. *Food and Chemical Toxicology*. 22 (10): 819-852, 1984.
- Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K. Behavioral effects of ketamine and toxic interactions with psychostimulants. *BMC Neurosci*. 16;7:25, 2006.
- Hervás I, Artigas F. Effect of fluoxetine on extracellular 5-hydroxytryptamine in rat brain. Role of 5-HT autoreceptor. *Eur J Pharmacol*. 358:9-18, 1998.
- Himnan DJ. Tolerance and reverse tolerance to toluene inhalation. Effects on open-field behaviour. *Pharmacol Biochem and Behav*. 21(4): 625-31, 1984.
- Hyttel J. Pharmacological characterization of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). *Int Clin Psychopharmacol*. 9 Suppl 1:19-26. Review. 1994
- Iversen SD, Iversen L: *Behavioral Pharmacology*, 2a, ed. Oxford University Press, Nueva York, 1981.
- Kellar K, Cascio C, Butler J, Kurtzke R. Different effects of electroconvulsive shock and antidepressant drugs on serotonin receptors in rat brain. *Eur J Pharmacol*. 69:515-518, 1981.

- Kessler RC, McGonagle KA, Zhao S, Nelson CB, Hughes M, Eshleman S, Wittchen HU, Kendler KS. Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry*. 51(1):8-19, 1994.
- Kim JS, Schmid-Burgk W, Claus D, Kornhuber HH. Effects of amitriptyline on serum glutamate and free tryptophan in rats. *Arch Psychiatr Nervenkr*. 232(5):391-4, 1982
- Kim JS, Schmid-Burgk W, Claus D, Kornhuber HH. Increased serum glutamate in depressed patients. *Arch Psychiatr Nervenkr*. 1982;232(4):299-304.
- Kitamura Y, Zhao X, Takei M, Yonemitsu O, Nombra Y. Effects of antidepressants on the glutamatergic system in mouse brain. *Neurochem Int*. 19:247, 1991.
- Kjellstrand P, Holmquist B, Jonson I, Romare S, Månsson, L. Effects of organic solvents on motor activity in mice. *Toxicology* 35:35-46;1985.
- Kos T, Popik P, Pietraszek M, Schafer D, Danysz W, Dravolina O, Blokhina E, Galankin T, Bernalov AY. Effect of 5-HT₃ receptor antagonist MDL 72222 on behaviors induced by ketamine in rats and mice. *Eur Neuropsychopharmacol*. May;16(4):297-310. 2006
- Kudoh A, Takahira Y, Katagai H, Takazawa T. Small-dose ketamine improves the postoperative state of depressed patients. *Anesth Analg*. 95:114-8, 2002.
- Layer RT, Popik P, Olds T, Skolnick P. Antidepressant-like actions of the polyamine site NMDA antagonist, eliprodil (SL-82.0715). *Pharmacol Biochem Behav*. 52(3):621-7. 1995
- Leander JD. Tricyclic antidepressants block N-methyl-D-aspartic acid-induced lethality in mice. *Br J Pharmacol*. 96,256; 1989.
- López-Rubalcava C, Hen R, Cruz SL: Anxiolytic-like actions of toluene in the burying behaviour and plus-maze tests: differences in sensitivity between 5-HT(1B) knockout and wild-type mice. *Behav Brain Res*, 115:85-94, 2000.
- Lopreato GF, Phelan R, Borghese CM, Beck Stead MJ, Mihic SJ: Inhaled drugs of abuse enhance serotonin-3 receptor function. *Drug Alcohol Depend*, 70:11-15, 2003.
- Ma W, Shaffer KM, Pancrazio JJ, Shuchnessy JO, Stenger DA, Zhang L, Barker JL, Maric D: Toluene inhibits muscarinic receptor-mediated cytosolic Ca²⁺ responses in neural precursor cells. *Neurotoxicology*, 23:61-68, 2002.
- Maes M, Jacobs M-P, Suy E, Minner B, Leclercq C, Christiaens F, Raus J. Suppression effects of dexamethasone on availability of plasma L-tryptophan and tyrosine in healthy controls and depressed patients. *Acta Psychiatr Scand*. 81:19-23, 1990.
- Maes M and Meltzer. The serotonin hypothesis of major depression. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*, Raven Press, Ltd., New York, pp:933-944, 1995.
- Marjot R, McLeod AA: Chronic non-neurological toxicity from volatile solvent substance abuse. *Human Toxicology*. 8: 301-306, 1989.
- Markou A, Kosten TR, Koob GF. Neurobiological similarities in depression and drug dependence: a self-medication hypothesis. *Neuropsychopharmacology*. 18(3):135-74, 1998.
- Mason BJ, Kocsis JH, Ritvo EC, Cutler RB. A double-blind, placebo-controlled trial of desipramine for primary alcohol dependence stratified on the presence or absence of major depression. *JAMA*. 275(10):761-7, 1996.
- Massou JM, Trichard C, Attar-Levy D, Feline A, Corruble E, Beaufile B, Martinot JL. Frontal 5-HT₂ receptors studied in depressive patients during chronic treatment by selective serotonin reuptake inhibitors. *Psychopharmacology (Berl)* 133:99-101, 1997.
- Matsubara S, Arora R, Meltzer H. Serotonergic measures in suicide brain: 5-HT_{1A} binding sites in frontal cortex of suicide victims. *J Neural R Transm*. 85:191-194, 1991.
- Mattia CJ, Adams JD Jr, Bondy SC: Free radical induction in the brain and liver by products of toluene catabolism. *Biochem Pharmacol*, 46:103-110, 1993.
- McGrath PJ, Nunes EV, Stewart JW, Goldman D, Agosti V, Ocepek-Welikson K, Quitkin FM. Imipramine treatment of alcoholics with primary depression: A placebo-controlled clinical trial. *Arch Gen Psychiatry*. 53(3):232-40, 1996.
- Meana J, Barturen F, García-Sevilla J. Alpha-2 adrenoceptors in the rat brain of suicide victims: increased receptor density associated with major depression. *Biol Psychiat*. 31:471-490, 1992.
- Meloni D, Gambarana C, De Montis MG, Dal Pra P, Taddei I, Tagliamonte. Dizolcipine antagonizes the effect of chronic imipramine on learned helplessness in rats, *Pharmacol. Biochem Behav*. 46:423, 1993.
- Miller H, Delgado P, Salomon R, Berman R, Krystal J, Heninger G, Charney D. Clinical and biochemical effects of catecholamine depletion on antidepressant-induced remission of depression. *Arch Gen Psychiat*. 53:117-128, 1996.
- Moryl E, Danysz W, Quack G. Potential antidepressive properties of amantadine, memantine and bifemelane. *Pharmacol Toxicol*. 72(6):394-7, 1993.
- Moser VC and RL Balster: The effects of acute and repeated toluene exposure on operant behaviour in mice. *Neurobehav Toxicol Teratol* 3:471-475, 1981.
- Moser VC, Balster RL: Acute motor and lethal effects of inhaled toluene, 1,1,1-trichloroethane, halothane, and ethanol in mice: Effects of exposure duration. *Toxicol Appl Pharmacol*. 77:285-291;1985.

- Myers JK, Weissman MM, Tischler GL, Holzer CE 3rd, Leaf PJ, Orvaschel H, Anthony JC, Boyd JH, Burke JD Jr, Kramer M, Stoltzman R. Six-month prevalence of psychiatric disorders in three communities 1980 to 1982. *Arch Gen Psychiatry*. 41(10):959-67, 1984.
- Nelson GO. Controlled test atmospheres. Livermore. 1-7, 1971.
- Nestler EJ, Hyman SE, Malenka RC: *Molecular Neuropharmacology. A Foundation for Clinical Neuroscience*. McGraw-Hill, USA, 2001.
- Noda Y, Mamiya T, Furukawa H, Nabeshima T. Effects of antidepressants on phencyclidine-induced enhancement of immobility in a forced swimming test in mice. *Eur J Pharmacol*. 18;324(2-3):135-40, 1997.
- Nomiyama K, and Nomiyama H. Respiratory retention, uptake and excretion of organic solvents in man. *Int. Arch. Arbeitsmed*. 32, 75, 1974.
- Nomura S, Okada H, Naruse R, Yamaoka K. The tail suspension test for screening antidepressant drugs: comparison of movement in ICR and NMRI mice. *Jpn J Psychiatry Neurol*. 45, 113–114. 1991.
- Nowak G, Trullas R, Layer P, Skolnick P, Paul IA. Adaptive changes in the N-methyl-D-aspartate receptor complex following chronic treatment with imipramine and 1-aminocyclopropanecarboxylic acid. *J Pharmacol Exp Ther*, 265: 1380, 1993.
- Nunes EV, McGrath PJ, Quitkin FM, Stewart JP, Harrison W, Tricamo E, Ocepek-Welikson K. Imipramine treatment of alcoholism with comorbid depression. *Am J Psychiatry*. 150(6):963-5, 1993.
- Paconi E, Roux J, Altenbaumer M, Hampe S, Porsolt RD. MK-801 and enantiomers : potential antidepressants or false positives in classical screening models ?. *Pharmacol Biochem Behav*. 46:15, 1993.
- Paez-Martinez N, Cruz SL, Lopez-Rubalcava C. Comparative study of the effects of toluene, benzene, 1,1,1-trichloroethane, diethyl ether, and flurothyl on anxiety and nociception in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 15;193(1):9-16, 2003.
- Paez-Martinez N, López-Rubalcava C, Cruz SL: Avances en la investigación básica de los efectos *in vivo* de los disolventes de abuso. *Salud Mental*. 26:8-16, 2003.
- Paez-Martinez N, López-Rubalcava C, Cruz SL: Avances recientes en la investigación de los mecanismos celulares de acción de los disolventes de abuso. *Salud Mental*, 26(5):43-50, 2003.
- Page, IH. The discovery of serotonin. *Perspect Biol Med*, 20:1-8, 1976.
- Papp M, Moryl E. Antidepressant activity of non-competitive and competitive NMDA receptor antagonists in a chronic mild stress model of depression. *Eur J Pharmacol*. 263:1-7, 1994.
- Porsolt RD, Pichon MLe, Jalfre M. Depresión: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 226:730-2, 1977a.
- Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral Despair in Mice: A Primary Screening Test for Antidepressants. *Arch. Int. Pharmacodyn*, 229:327-336, 1977b.
- Przegalinski E, Tatarczynska E, Deren-Wesolek A, Chojnacka-Wojcik E. Antidepressant-like effects of a partial agonist at strychnine-insensitive glycine receptors and a competitive NMDA receptor antagonist. *Neuropharmacology*. 36(1):31-7, 1997.
- Pyykkö K, Tähti H, and Vapatalo H. Toluene concentrations in various tissues of rats after inhalation and oral administration. *Arch. Toxicol.*, 38, 169, 1977.
- Raap D, Van de Kar L. Selective serotonin reuptake inhibitors and neuroendocrine function. *Life Sci*. 65: 1217-1235, 1999.
- Rea TM, Nash JF, Zabik JE, Born GS, Kessler WV: Effects of toluene inhalation on brain biogenic amines in the rat. *Toxicology*, 31:143-150, 1984.
- Rees DC, Knisely JS, Breen TJ, Balster RL: Toluene, halothane, 1,1,1-trichloroethane and oxazepam produce ethanol-like discriminative stimulus effects in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 243:931-7, 1987.
- Reynolds IJ, Miller RJ. Tricyclic antidepressants block n-methyl-D-aspartate receptors: similarities to the action of zinc. *Br J Pharmacol*. 95:95, 1988.
- Ridenour TA. Inhalants: not to be taken lightly anymore. *Curr Opin Psychiatry*. 18:243-247, 2005.
- Riegel AC, French ED: An electrophysiological analysis of rat ventral tegmental dopamine neuronal activity during acute toluene exposure. *Pharmacol Toxicol*, 85:37-43, 1999.
- Riihimäki V. Conjugation and urinary excretion of toluene and m-xylene metabolites in a man. *Scand. J. Work Environ. Health*. 5, 135, 1979.
- Robins LN, Helzer JE, Weissman MM, Orvaschel H, Gruenberg E, Burke JD, Regier DA. Lifetime prevalence of specific psychiatric disorders in three sites. *Arch Gen Psychiatry*. 41:949-958, 1984.
- Sakai JT, Hall SK, Mikulich-Gilbertson SK, Crowley TJ. Inhalant use, abuse, and dependence among adolescent patients: commonly comorbid problems. *J Am Acad Chil Adolesc Psychiatry*. 43(9):1080-8, 2004.
- Schatzberg AF, Schildkraut JJ. Recent Studies on Norepinephrine Systems in Mood Disorders. En: *Psychopharmacology. The Fourth Generation Of Progress*, ed. Floyd E. Bloom and David J. Kupfer. Raven Press, Ltd., New York, pp: 911-920, 1995.
- Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. 1965. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 7(4):524-33; discussion 523-4, 1995.
- Skuza G, Rogóż Z. Effect of combined treatment with selective sigma ligands and amantadine in the forced swimming test in rats. *Pol J Pharmacol*. 54(6):699-702, 2002.

- Sills MA, Loo PS. Tricyclic antidepressants and dextromethorphan bind with higher affinity to the phencyclidine receptor in the absence of magnesium and L-glutamate. *Mol Pharmacol.* 36:160, 1989.
- Skolnick P, Layer RT, Popik P, Nowak G, Paul IA, Trullas R. Adaptation of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors following antidepressant treatment: implications for the pharmacotherapy of depression. *Pharmacopsychiatry.* 29(1):23-6. Review, 1996.
- Snyder R. Ethel Browning's toxicity and metabolism of industrial solvents. Vol. 1. Hydrocarbons, Segunda edición. Elsevier, Amsterdam, 1987.
- Stahl, SM. Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications. Cambridge University Press, New York. 2000
- Stengard K, Höglund G, Ungerstedt U: Extracellular dopamine levels within the striatum increase in awake, freely moving rats. *Toxicol Lett*, 71:245-255, 1994.
- Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P: The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology.* 85:367-370, 1985.
- Taylor JD, Evans HL: Effects of toluene inhalation on behaviour and expired carbon dioxide in macaque monkeys. *Toxicol Appl Pharmacol.* 80:487-495, 1985.
- Tillar R, Shafer TJ, Woodward JJ: Toluene inhibits voltage-sensitive calcium channels expressed in pheochromocytoma cells. *Neurochem Int*, 41:391-397, 2002.
- Trullas R, Skolnick P. Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions. *Eur J Pharmacol.* 185:1-10, 1990.
- Vale S, Espejel MA, Dominguez JC. Amantadine in depression. *Lancet.* 21;2(7721):437. 1971.
- Van Praag H. Depression, suicide and metabolites of serotonin in the rat brain. *J Affect Disord.* 4:21-29, 1982.
- Weiss B, Wood RW, Macys DA: Behavioral toxicology of carbon disulfide and toluene. *Environ Health Perspect*, 30:39-45, 1979.
- Westerink RHS, Vijverberg HPM: Toluene-induced, Ca²⁺ dependent vesicular catecholamine release in rat PC12 cells. *Neurosci Lett*, 326:81-84, 2002.
- White G, Lovinger DM, Peoples RW, Weight FF. Inhibition of N-methyl-D-aspartate activated ion current by desmethylimipramine. *Brain Res.* 24;537(1-2):337-9, 1990.
- Willner P. Animal model of depression. En Handbook of depression and anxiety. A biological approach. De Boer J, Sitsen J (eds). Marcel Dekker Inn. N.Y. pp: 291-316, 1994.
- Wongwitdecha N, Kasemsook C, Plasen S. Social isolation alters the effect of desipramine in the rat forced swimming test. *Behav Brain Res.* Feb 28;167(2):232-6, 2006.
- Wood RW, Coleman JB, Schuler R, Cox C: Anticonvulsant and antipunishment effects of toluene. *J Pharmacol Exp Ther*, 230:407-12; 1984.
- Wood RW, Colotla VC: Biphasic changes in mouse motor activity during exposure to toluene. *Fundam Appl Toxicol* 14:6-14; 1990.
- Yamada J, Sugimoto Y. Differential effects of the 5-HT₂ receptor antagonist on the anti-immobility effects of noradrenaline and serotonin reuptake inhibitors in the forced swimming test. *Brain Res.* 20;958(1):161-5. 2002.