

**“PERCEPCION GUSTATIVA DEL SABOR UMAMI EN RATAS EXPUESTAS CRONICAMENTE A  
TOLUENO”**

---



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLAS DE HIDALGO**  

---

**FACULTAD DE  
QUIMICO FARMACOBIOLOGIA**

**LABORATORIO DE  
NEUROCIENCIAS Y FARMACOBIOLOGIA**

**“PERCEPCIÓN GUSTATIVA DE SABOR UMAMI EN RATAS EXPUESTAS  
CRÓNICAMENTE A TOLUENO”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTA**

**P. Q.F.B. MARTHA BERENICE PLANCARTE MIRANDA**

**ASESORES:**

**D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO  
D.C. MARCIA IVETTE GAUTHERAU TORRES**



**MORELIA MICHOACAN, MEXICO NOVIEMBRE DE 2010**

## **CRÉDITOS INSTITUCIONALES**

El presente trabajo de tesis se realizó en los laboratorios de Neurobiología y Farmacobiología de la facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo, Tesis Financiado por el Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología(COECyT) 2008 y por; CIC-U.M.S.N.H. 26.2, (2010).

## DEDICATORIA

Esta tesis es el resultado de la ilusión, esfuerzo, confianza y mucha, mucha paciencia que volcaron sobre mí aquellas personas que están a mi lado queriéndome y dándome siempre un ánimo para seguir adelante y no darme por vencida sin darle termino a mis objetivos.

A todos ellos mil “gracias”

Especialmente a mi Madre Roma Miranda Cortez, porque a través de los años a sido una madre, una amiga, compañera y apoyo incondicional. Para que, en aquellos momentos de flaqueza no desistiera, sino más bien, me mantuviera en pie viendo siempre hacia adelante, viviendo y corrigiendo mi vida, mis sueños. Gracias.

A ti madre te dedico mi trabajo.

A mi pequeño hijo Iker Jared, Gracias a ti hoy soy feliz cuando llegaste aprendí a vivir!!!! Por el maravilloso cambio que se ha realizado en mí, tratando de ser una mejor persona, amiga e hija. Por la gran luz que le diste a mi vida.....te amo hijo!!!!

A mi padre Gustavo Plancarte Miranda, por la paciencia, apoyo y comprensión que me ha brindado a lo largo de esta difícil pero espero satisfactoria carrera. A ti papa gracias.

A mis hermanos Moisés, Julissa y a mis sobrinos porque cada uno de ellos siempre me brindo su apoyo emocional, moral y económico. Por ser mis hermanos y quererme tanto “Gracias los quiero”.

A mi compañero, Por compartir momentos de éxito, como de fracaso, alegrías y muchos días de desesperación, que he tenido a lo largo de este camino. Por estar conmigo gracias!!!!

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a los asesores que hicieron posible la realización de este trabajo, por sus consejos y paciencia, gracias. DC Rosalio Mercado Camargo y la DC Marcia Yvette Gauthereau Torres.

Por último pero no por eso demeritorio, gracias!! a aquellos que en diferentes etapas pero muy significativas forman parte de mi vida, por compartir momentos de felicidad y tristeza, de éxito y fracaso y que sin embargo nos mantuvimos juntos y firmes como solo los grandes amigos lo hacen. Cinthia J. Quevedo, Lizbeth Abarca, Karina Tavarez, Jesús Pino, Juan Carlos Hernández, Marco A. Silvestre, Ruth Ambriz, Baruc Campos etc.

A mis amigos de laboratorio, porque en los momentos de duda, supieron darle respuesta a ellas, porque en los momentos de felicidad la compartimos; Pato, Luis, Gustavo, Gaby, Angy, Blanca y Susana.

Agradesco al hospital civil por el préstamo del criostato, a los profesores sinodales:

Q.F.B Armida Sanchez Gallegos

D.C Carmen Bartolome Camacho

D.C Daniel Godinez Hernandez.

## CONTENIDO

<b>Créditos Institucionales</b> .....	1
<b>Dedicatoria</b> .....	2
<b>Agradecimientos</b> .....	3
<b>Contenido</b> .....	4.
<b>Índice de Figuras</b> .....	4
<b>Índice de Tablas</b> .....	5
<b>Índice de Abreviaturas</b> .....	5

## INDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	6
<b>ABSTRACT</b> .....	7
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	
I.1 GENERALIDADES.....	8
I.2 SOLVENTES INHALABLES DE ABUSO.....	10
I.3 CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS DE LOS INHALABLES.....	11
I.4 MECANISMOS DE ACCION DE LOS INHALABLES DE ABUSO.....	12
I.5 RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS.....	14
I.6 TOLUENO.....	14
I.7 SISTEMA GUSTATIVO.....	17
<b>II. JUSTIFICACIÓN</b> .....	25
<b>III. HIPOTESIS</b> .....	25
<b>IV. OBJETIVO GENERAL</b> .....	26
<b>V. OBJETIVOS ESPECIFICOS</b> .....	26
<b>VI. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	
VI.1 ANIMALES.....	27
VI.2 INGESTA DE LÍQUIDOS.....	27
VI.3 EXPOSICIÓN A LOS SOLVENTES.....	28
VI.4 CÁMARA DE EXPOSICIÓN.....	28
VI.5 ECUACION DE NELSON.....	29
VI.6 FARMACOS EMPLEADOS.....	29
<b>VII. RESULTADOS</b> .....	30
<b>VIII.DISCUSION</b> .....	35
<b>IX. CONCLUSIONES</b> .....	36
<b>X. BIBLIOGRAFIA</b> .....	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Fig.1** Estructura del Tolueno ( $C_6H_5CH_3/C_7H_8$ ).....  
**Fig.2** Anatomía de las regiones implicadas en el sentido del gusto.....  
**Fig.3** Representación de las células gustativas en la lengua.....  
**Fig.4** Visión transversal de las papilas caliciformes y la estructura detallada de los corpúsculos gustativos.....  
**Fig.5** Mecanismos celulares que permiten la detección de las principales modalidades del gusto...  
**Fig.6** Cámara de exposición.....

## INDICE DE ABREVIATURAS

Am: Amígdala.

ASTRD: Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades.

Ca<sup>2++</sup>: ion calcio.

H<sup>+</sup>: ion hidrogeno

K<sup>+2</sup>: ion potasio.

KCl: Cloruro de potasio.

mg: miligramos.

ml: mililitros.

μM: micromol.

Na<sup>+2</sup>: ion sodio.

TCE: Tricloroetano

NF: Nervio Facial.

NG: Nervio Glossofaríngeo.

NMDA: N-metil-D-aspartato.

NV: Nervio Vago.

ppb: partes por billón.

ppm: partes por millón.

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

SNC: Sistema Nervioso Central

## RESUMEN

El abuso de disolventes inhalables constituye un problema importante de salud pública en México, la prevalencia de uso de al menos una vez en la vida entre los estudiantes menores de 14 años, es de alrededor de 3% en Michoacán y de 1% en México. En la mayoría de los casos, los productos comerciales que son sujeto de inhalación son mezclas complejas de disolventes que contienen tolueno en mayor porcentaje, pero que también pueden poseer otros disolventes de abuso como el benceno y el xileno. Existen reportes epidemiológicos que indican que el consumo crónico de disolventes de abuso puede causar pérdida del apetito; sin embargo, se desconocen los mecanismos involucrados en estos efectos. Uno de los sabores detectados por el sistema gustativo es el umami (glutamato monosódico) y se ha propuesto que los receptores glutamatérgicos pueden tener un papel importante en la traducción y percepción del sabor umami, se desconoce si existe alteración en la percepción del sabor umami debido a la exposición crónica a disolventes de abuso, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar si existen cambios en la ingesta de solución de glutamato en ratas expuestas de manera crónica a al solvente inhalable tolueno. Para lo cual se procedió a exponer durante dos meses un grupo de ratas a tolueno y durante el tratamiento se les determinó la ingesta de solución de glutamato 120 mM, el peso de los animales y la ingesta de alimento. Los resultados muestran que las ratas expuestas al disolvente incrementaron la ingesta de solución de glutamato, disminución de peso y del consumo de alimento. Estos datos apoyan la hipótesis de las alteraciones causadas por los disolventes inhalables de abuso sobre la conducta alimentaria.

**ABSTRACT**

Inhaled solvent abuse is a major public health problem in Mexico, the prevalence of use of at least once in life among those younger than 14 years, is about 3% and 1% Michoacán in Mexico. In most cases, commercial products are subject to inhalation are complex mixtures of solvents containing toluene at a higher rate, but may also have other abuse solvents such as benzene and xylene. There are epidemiological reports indicate that chronic consumption of solvents of abuse can cause loss of appetite, yet unknown mechanisms involved in these effects. One of the flavors detected by the taste system is the umami (monosodium glutamate) and has been proposed that glutamate receptors may play an important role in the translation and umami taste perception, it is unknown whether there is impairment of umami taste perception because Chronic exposure to solvents of abuse, so the aim of this study was to determine whether there are changes in the glutamate solution intake in rats chronically exposed to the solvent toluene inhalation. To which we proceeded to exhibit for two months a group of rats to toluene and during treatment were determined intake of 120 mM glutamate solution, the animal weight and food intake. The results show that rats exposed to the solvent solution intake increased glutamate, decreased weight and food intake. These data support the hypothesis of disturbances caused by solvent abuse inhalants on feeding behavior.



## I.- INTRODUCCIÓN

### I.1. GENERALIDADES

Los inhalables son vapores o sustancias volátiles a temperatura ambiente y son administrados por inhalación con el fin de alterar la conciencia y estado de ánimo sin causar intoxicación (Dinwiddie, 1994). El descubrimiento moderno de los efectos intoxicantes de los inhalantes comienza con Sir Humphry Davy (1777), quien se administró óxido nitroso así mismo y a otros. Conforme se introdujeron otros gases anestésicos, como el cloroformo y el éter, también se emplearon socialmente.

La inhalación de sustancias data de la Grecia antigua, donde una anciana invocaba el don de la profecía al inhalar dióxido de carbono. Posteriormente se conoció el uso de anestésicos con fines de recreación. Los avances en la petroquímica llevaron a la producción de diversas sustancias, que posteriormente se utilizaron para diversos fines (drogadicción) en todo el mundo.

Estas sustancias provocan una euforia rápida muy similar a la producida por el alcohol, con una excitación inicial seguida por somnolencia, desinhibición, aturdimiento y agitación. Si se inhalan grandes cantidades generalmente se puede producir anestesia. Generando dependencia y síndrome de abstinencia cuando se suspende su consumo.

El hombre puede estar en contacto con estos compuestos en condiciones laborales, por inhalación voluntaria o intoxicación accidental. Los niveles de exposición pueden ir desde unas cuantas partes por millón (ppm) hasta variar desde algunos minutos hasta varias horas al día, (Marjot, 1989). Encontramos una gran variedad de productos ya que son de uso comercial, su posesión es legal, son baratos y la inhalación de sus vapores no se considera una conducta de alto riesgo. Convirtiéndolos en drogas de abuso de fácil acceso. El abuso de inhalables constituye un problema de magnitud mundial que repercute en la salud pública, no solo porque afecta grandes grupos sociales, muchos de ellos marginados, si no porque se presenta a edades muy temprana provocando grandes secuelas para la salud, incluida la presentación ocasional de muertes súbitas. ya que también estos

pueden encontrarse en el ámbito laboral implicando a miles de trabajadores de la industria tanto petrolera, química, las imprentas, gasolineras, pintores, carpinteros, zapateros, etc. (Dinwiddie, 1994; Flanagan, 1994; Kosel et al., 1995).

Los inhalables se clasifican en 3 grandes categorías:

- **Disolventes orgánicos industriales:**

Thinner, desengrasantes, gasolina, pegamentos, los disolventes para usos artísticos o de oficina, incluyendo los líquidos correctores, los líquidos de los marcadores con punta de fieltro y los productos de limpieza de los contactos electrónicos. (NIDA).

- Los gases:

Los refrigerantes, aerosoles y anestésicos, los gases usados en productos caseros incluyendo los encendedores de butano y los tanques de gas propano, los aerosoles como desodorantes, sprays para el pelo, los gases anestésicos de uso médico, como el éter, cloroformo, el alotano, y el óxido nítrico (gas hilarante).(NIDA).

- Los nitritos:

Los nitritos alifáticos, incluyendo nitritos ciclohexílico, el butílico y el amílico, comúnmente conocidos como “poppers” o “reventadores”. El nitrito amílico todavía se usa para ciertos procedimientos de diagnóstico médico.

Los nitritos volátiles frecuentemente se venden en pequeñas botellas cafés con el nombre de limpiador de videos, desodorante ambiental, limpiadoras de cuero, o aroma líquida. ([www.drogabuse.gov](http://www.drogabuse.gov)).

Los disolventes a su vez se clasifican en varios grupos de acuerdo con su estructura química: hidrocarburos aromáticos (benceno, tolueno, xileno), hidrocarburos halogenados, alifáticos, cíclicos, alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos, cetonas. (Modificado de Ayres y Taylor, 1989).

## I.2. SOLVENTES INHALABLES DE ABUSO

Los disolventes de abuso son sustancias orgánicas que poseen características tales como: son lipofílicas, volátiles a temperatura ambiente y producen depresión del sistema nervioso central (SNC) cuando se administra a grandes dosis (GRASSO et al., 1984).

El consumo de droga de abuso tiene una gran importancia social. Entre los estudiantes de enseñanza media y media superior en el Ciudad de México, la marihuana y los inhalables eran las drogas ilegales de preferencia en 1976; el uso de estas dos drogas sufre aumentos significativos de 1976 a 1978, siendo mayor el incremento en el consumo de inhalables, que pasa a ser la droga de preferencia para grupos sociales marginados.

En 1976, el uso de los inhalables era propio de clases bajas, pero en 1980 se comenzó a consumir en igual proporción entre estudiantes de todos los niveles sociales.

El abuso de inhalables constituye un problema de relevancia mundial (Lorenzana, 1985). De acuerdo con estudios recientes, en estado unidos la prevalencia de uso de al menos una vez en la vida entre los estudiantes de enseñanza de nivel media superior, es alrededor del 15%(NIDA). Esta cifra es de aproximadamente 5% en el D.F (Villatoro, 2001) y de 1% en México de acuerdo con la última encuesta nacional de adicciones (ENA 2002) pero es mucho mayor, de 22%, en la población de los niños que trabajan y/o viven en la calle (Medina, 1995).

Los adictos a inhalables pueden llegar a exponerse a varios miles de partes por millón (2000 – 30000 ppm) de disolventes volátiles en una sola sesión (Marjot y Mcled, 1989). Esta situación contrasta claramente con lo que ocurre en el campo ocupacional donde los individuos se exponen por periodos largos a bajas concentraciones de disolventes (50 – 200 ppm; Arlien-Søborg, 1992). Se han hecho muchos estudios de los efectos de los disolventes industriales tratando de reproducir la situación de la exposición ocupacional; sin embargo, son pocos los grupos de investigación que han llevado a cabo estudios controlados de laboratorio de exposiciones cortas a altas concentraciones de disolventes.

En la mayoría de los casos, los productos comerciales que son sujeto de inhalación son mezclas complejas de disolventes que contienen tolueno en mayor porcentaje, pero que también pueden poseer otros disolventes de abuso como el benceno y el xileno (Arlien-Søborg, 1992; Agency for toxic substances and disease registry [ATSDR], 1994; Balster, 1998). Es importante señalar que todos los disolventes aromáticos tienen la capacidad de producir daños en el SNC (Larsen, 1988) y sistema nervioso periférico (SNP).

A pesar del gran número existente de inhalables, no todos tienen los mismos efectos, particularmente en lo que se refiere a su toxicidad: Algunos disolventes son tóxicos para el hígado (cloro hidrocarburos), otros para el riñón (tolueno), otros para los nervios periféricos (hexano), otros para la sangre (benceno) y otros para el sistema nervioso (tolueno). Por ello, es preciso distinguirlos e identificar al agente responsable del cuadro de abuso. ([www.mex.ops-oms.org.com](http://www.mex.ops-oms.org.com)).

Existen reportes que indican que los disolventes de abuso, al igual que el alcohol, pueden producir pérdida del apetito, lo que se puede traducir en una disminución en el peso y desnutrición. El uso prolongado de la mayoría de las drogas de abuso puede desarrollar cambios biológicos en el organismo, como lo es la aparición de tolerancia y dependencia física; con esto el consumidor tiende a incrementar la dosis para la producción del efecto deseado y tener un consumo continuo para evitar la aparición del síndrome de abstinencia.

### **I.3 CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS DE LOS INHALABLES**

Desde hace algunos años se ha propuesto que los disolventes de abuso comparten un perfil farmacológico con los depresores clásicos del sistema nervioso central (SNC) (Echeverría et al., 1991; Evans y Balster, 1991), por lo que se les ha agrupado en esta categoría junto con los barbitúricos, las benzodiacepinas, los anestésicos y el etanol (Hobbs et al., 1996). De acuerdo con estudios conductuales y farmacológicos, tanto los inhalables como los depresores del SNC pueden producir auto administración compulsiva, (Evans y Balster, 1991), deterioro motor (Himnan, 1984), aumento en la actividad locomotora espontánea (Bowen y Balster, 1998; Warren et al., 2000), ansiólisis (López-Rubalcava et al., 2000) y efectos anticonvulsivantes (Wood et al., 1984; Cruz et al., 2003).

#### I.4 MECANISMOS DE ACCION DE LOS INHALABLES DE ABUSO

A pesar de su importancia, durante mucho tiempo se relegó el estudio de éstas sustancias como drogas de abuso. En una revisión de 1994 todavía se afirma que el mecanismo de acción de los inhalables es un misterio (Dinwiddie, 1994).

Basándose en los estudios que mostraron similitudes farmacológicas entre los disolventes de abuso y los depresores clásicos del SNC (Evans y Balster, 1991), se consideró importante establecer si existían mecanismos celulares en común para estos efectos. De esta forma, hace algunos años se empezaron a estudiar los mecanismos de acción a través de los cuales actúan los inhalables (Dinwiddie, 1994; Balster, 1998), tomando como punto de partida los mecanismos previamente reportados para el caso del etanol. La teoría de Meyer y Overton (Meyer, 1899; Overton, 1901) se aplica al etanol y los disolventes orgánicos industriales, consideraba que los anestésicos tenían un mecanismo de acción inespecífico dado por su capacidad de penetrar la membrana y producir cambios en su fluidez. Gradualmente, sin embargo, se acumularon pruebas en contra de que el etanol actuara por este mecanismo.

Esta teoría tuvo validez durante mucho tiempo, sin embargo a finales de la década de 1980 se presentaron hipótesis alternativas. Allan y Harris (1986) reportaron que el etanol actúa como agonista del receptor ionotrópico GABA<sub>A</sub> en membranas de cerebelo de ratón en concentraciones menores (5-50 mM), que las requeridas para alterar la fluidez membranal. Deitrich (1989) encontró que el etanol aumenta el flujo producido por GABA<sub>A</sub>. Lovinger (1989) estudió la acción del etanol sobre receptores inotrópicos, demostrando que podían tener selectividad para inhibir la función de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) en células del hipocampo en concentraciones relevantes para el ser humano.

Ese mismo año (1989), Dildy y Leslie confirmaron lo observado por Lovinger mediante estudios simultáneos empleando técnicas bioquímicas, analizando la potencia y selectividad del etanol para inhibir la conductancia de calcio en receptores NMDA. Como puede verse, el etanol inhibe los receptores NMDA y nicotínicos y potencia los receptores GABA<sub>A</sub>, glicina y **5-HT<sub>3</sub>** en concentraciones 10 y 100 veces mayor que las del tolueno (ver tabla I).

**“PERCEPCION GUSTATIVA DEL SABOR UMAMI EN RATAS EXPUESTAS CRONICAMENTE A TOLUENO”**

Parece ser una constante que el tolueno es mucho más potente que el etanol. Fue en 1995 que Grant y Lovinger sugieren que el efecto del etanol se debía a la acción específica sobre un receptor, más que a un efecto de fluidización lipídica (Lovinger, 1991).

A partir de entonces, se inicio la búsqueda de nuevos blancos moleculares de acción y se obtuvo información bastante compleja de los efectos celulares del etanol, que sirvió como pieza clave en el estudio del mecanismo de acción de otros alcoholes, anestésicos y disolventes (Páez-Martínez et al. 2003).

**Tabla I. EFECTOS CELULARES DEL ETANOL Y TOLUENO SOBRE RECEPTORES.\*El**

<b>RECEPTOR</b>	<b>ETANOL</b>	<b>TOLUENO</b>	<b>REFERENCIA</b>
NMDA	Inhibición	Inhibición	(Lovinger, et al. 1989).
GABA <sub>A</sub>	Activa de la función.	Activa	(Allan y Harris, 1986).
GLICINA	Activa de la función.	Activa	(Celentano, et al. 1988).
*NICOTÍNICOS	Inhibe.	Inhibe	(Aistrup, et al. 1999).
5-HT <sub>3</sub>	Potencia la función.	Potencia	(Lovinger, 1994).
Ca <sup>2+</sup>	Inhibe canales de Ca <sup>+2</sup> activados por voltaje.	Inhibe	(Wang, et al. 1994).

tolueno tiene un efecto inhibitorio sobre todos los tipos de receptores nicotínicos probados a la fecha (Bale et al., 2002), mientras que el etanol tiene un efecto inhibitorio sobre algunos subtipos y excitatorio sobre otros (Aistrup et al., 1999; Buck et al., 1999).

## I.5 RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS

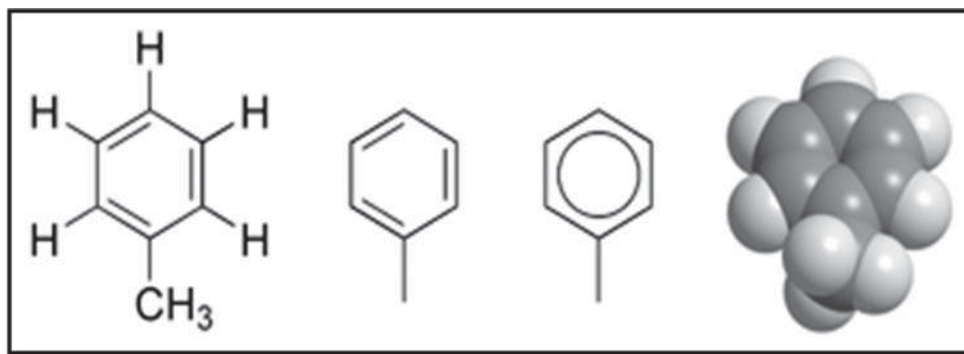
En lo que se refiere a los disolventes de abuso, (Cruz y col. 1998 ; 2000) demostraron que el tolueno, el 1,1,1-tricloroetano (TCE), el benceno y el xileno, a concentraciones de aproximadamente 200  $\mu$ M, inhiben la función de los receptores NMDA expresados en ovocitos de rana *Xenopus laevis*.

Se uso la técnica de expresión de receptores recombinantes en ovocitos; la cual consiste en inyectar mRNA o cDNA para expresar las proteínas que conforman los receptores de interés. De este modo es posible estudiar las corrientes iónicas activadas por la aplicación de un fármaco agonista mediante la técnica de fijación de voltaje de dos electrodos (Aston-Jones y Siggins, 1995).

Para los receptores glutamatérgicos se estudiaron los efectos de diferentes disolventes sobre los subtipos de receptores NMDA (NR1/2B,NR1/2C) Y no-NMDA (GluR1,GluR1/GluR2, y GluR6). El receptor NMDA del subtipo NR1/2B fue aproximadamente diez veces más sensible a los efectos inhibitorios de los disolventes que el subtipo NR1/2<sup>a</sup>( y en el caso del tolueno, también que el NR1/2C). Hubo que corregir los resultados por la evaporación de los disolventes en las soluciones de registro, arrojando las siguientes concentraciones inhibitorias al 50% (CI<sub>50</sub>), para la inhibición de los receptores NR1/2B: benceno, 0.23mM; tolueno, 0.17 Mm; m-xileno, 0.21 mM; etilbenceno, 0.17 Mm; propilbenceno, 0.35 mM y TCE, 0.18Mm. Determinándose que la inhibición producida por el tolueno, el más potente de los disolventes estudiados, es no competitiva y que los receptores no –NMDA (AMPA y Kainato) no se inhiben a concentraciones superiores a 10mM. Estos datos señalan que existe un efecto diferencial sobre distintos subtipos de receptores glutamatérgicos.

## I.6 TOLUENO

El tolueno fue aislado por primera vez por Henri Etienne Sainte-Claire Deville en 1844 mediante destilación seca. Su nombre deriva del bálsamo de Tolú un extracto aromático del árbol colombiano tropical *Myroxylon balsamum*. El tolueno (Fig. 1) es una droga de abuso que se encuentra presente en gran cantidad de productos de uso domestico, lo cual la convierte en una sustancia comercial cuya venta no tiene restricciones. Su uso ha incrementado con el paso del tiempo.



**Fig.1** Estructura del Tolueno (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>/C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>).

El tolueno es un líquido incoloro, de olor dulce muy característico (agradable), menos denso que el agua, inmisible en ella pero miscible en la mayoría de los disolventes orgánicos y en los aceites minerales, vegetales o animales. Sus vapores son más densos que el aire.

Excelente disolvente de grasas, ceras y resinas. Se puede comenzar a percibir su olor a partir de una concentración de 8 ppm y su gusto en el agua a partir de 0,4 a 1 ppm. Reacciona violentamente con óxidos fuertes, originando peligro de incendio y explosión. En mezcla con el aire los vapores son explosivos en el rango de 1-7 %.

Se clasifica como un hidrocarburo aromático; en su estructura contiene 6 átomos de carbono con un átomo de hidrogeno por carbono, contiene 3 dobles ligaduras y varias formas resonantes. Actúa a nivel molecular en receptores como el glutamato, GABA<sub>A</sub>, glicina y 5HT<sub>3</sub>.



El tolueno existe en forma natural en el petróleo crudo y en el árbol tolú. También se produce durante la manufactura de gasolina y de otros combustibles a partir de petróleo crudo y en la manufactura de coque a partir de carbón. También está presente en el humo de los cigarrillos. Químicamente se genera en la ciclodehidrogenación del *n*-heptano en presencia de catalizadores y pasando por el metilheptano. Además se obtiene como subproducto en la generación de etileno y de propeno. Es producido, principalmente, por reformación catalítica de las fracciones de petróleo ricas en naftenos. La producción anual de tolueno mundialmente es de 5 a 10 millones de toneladas.

En cuanto a sus aplicaciones, el tolueno se adiciona a los combustibles (como antidetonante) y como disolvente para pinturas (“Tiner”), revestimientos, caucho, resinas, diluyente en lacas nitrocelulósicas y en adhesivos. Además es el producto de partida en la síntesis del TNT (2,4,6-trinitrotolueno), un conocido explosivo. De igual modo, el tolueno es un disolvente ampliamente utilizado en síntesis.

Es utilizado en combustibles para automóviles y aviones; como disolvente de pinturas, barnices, hules, gomas, etil celulosa, poliestireno, polialcohol vinílico, ceras, aceites y resinas, reemplazando al benceno. También se utiliza como materia prima en la elaboración de una gran variedad de productos como benceno, ácido benzoico, fenol, benzaldehído, explosivos (TNT), colorantes, productos farmacéuticos (por ejemplo, aspirina), adhesivos, detergentes, monómeros para fibras sintéticas, sacarinas, saborizantes y perfumes (Flanagan, 1994; Budavari, 1996).

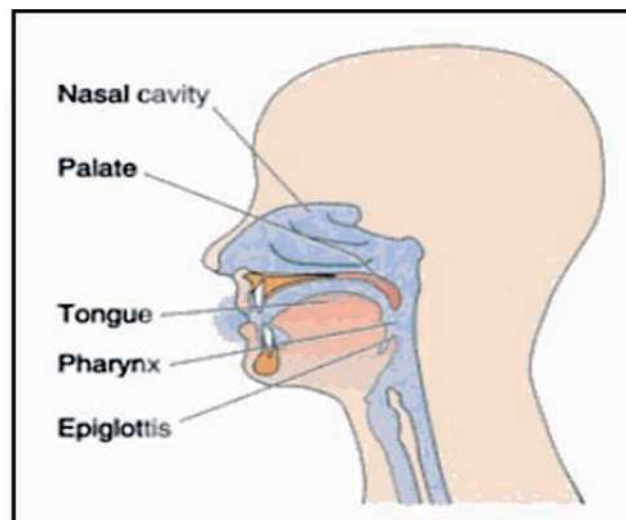
Los inhalables se absorben con gran rapidez a través del aparato respiratorio, permitiéndoles pasar directamente a la sangre, lo cual va a depender directamente del volumen inspirado, la concentración de tolueno en el aire y el tiempo de exposición. Por el alto poder liposoluble del tolueno, cruza con facilidad la barrera hematoencefálica, alcanzando el SNC. También se distribuye en otros órganos ricos en lípidos como corazón, hígado y riñones. La mayoría de las sustancias inhaladas se excretan por el aparato respiratorio sin sufrir modificaciones.

El resto de las sustancias son rápidamente metabolizadas por oxidación para convertirse en ácido benzoico, posteriormente es conjugado con glicina en el hígado para ser excretado en la orina como ácido hipúrico (Arlie-Søborg, 1992; ASTDR, 1994) menos del 20% de la dosis de tolueno absorbido es excretado sin cambios. Sus metabolitos tienen rangos muy limitados de vida media, que van de 1 a 2 días; así mismo, el disolvente en sangre tiene una vida promedio de poco más de 7.5 horas (RBL, 1992). Una vez absorbido, el tolueno es desechado completamente de la sangre en 24 horas.

Dados su efectos sobre el sistema nervioso, la exposición crónica a tolueno puede afectar la percepción del sabor umami, una de las modalidades del sistema gustativo.

## I.7 SISTEMA GUSTATIVO

Todos los organismos, incluso los situados en el único nivel de células, tienen la capacidad de detectar los productos químicos en el medio ambiente. La detección química es como la probable evolución de las necesidades de los organismos para detectar las fuentes de alimentos y evitar los compuestos potencialmente nocivos. Organismos de del medio ambiente: **olfato** y el **gusto** (Fig.2) (Medler, 2008).

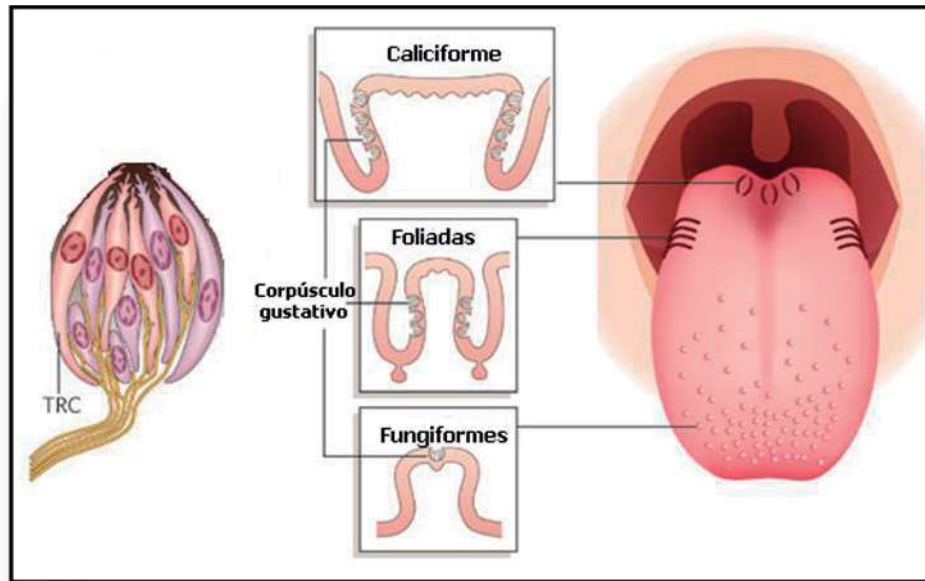


**Fig.2** Anatomía de las regiones implicadas en el sentido del gusto (Tomada de Soriano, 2007).

El sentido del gusto desempeña un papel esencial en la elección de los alimentos y la evitación de los tóxicos; ambos sentidos tienen un papel significativo en los placeres de la comida. De hecho, el sabor de los alimentos se altera profundamente cuando el sentido del olfato está deteriorado temporalmente durante un resfriado común (Pocock- Gillian et al., 2005; Brodal, 1998; Barlow, 1982). A través de éstos sentidos, las moléculas del medio ambiente nos proporcionan una información importante que utilizamos de forma constante en la vida cotidiana (Kandel, 2001). Inician los cambios fisiológicos necesarios para la digestión y la utilización de los alimentos ingeridos. En muchos mamíferos el sentido del olfato desempeña un papel adicional, despertando respuestas fisiológicas y de comportamiento en relación con los miembros de su misma especie. Los seres humanos son menos diestros que muchos animales en la percepción química, pero estos sentidos contribuyen de forma considerable a los aspectos afectivos de la vida y sus funciones pueden tener relevancia patológica (Kandel, 2001).

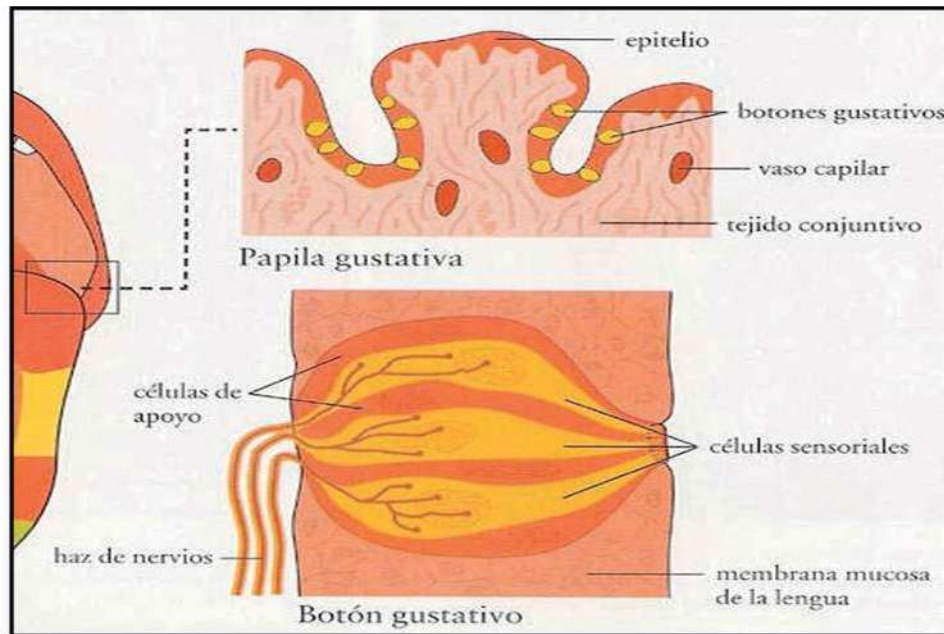
Los órganos del gusto, tienen por misión el percibir y enviar al cerebro el sabor de las cosas que introducimos en la boca. La lengua es el principal órgano del gusto. En toda su superficie existen pequeñas proyecciones llamadas papilas, que le confieren rugosidad (Pocock - Gillian et al., 2005; Brodal, 1998; Barlow, 1982).

En los mamíferos, la detección y la percepción de las moléculas sápidas activan una red neuronal que se extiende desde la lengua, el paladar, la faringe y la parte superior del esófago hasta el extremo inferior de la corteza parietal pasando por el núcleo del tracto solitario y el núcleo posterior del tálamo, dos estructuras localizadas a nivel del tronco cerebral. El primer elemento de este circuito de transmisión, es un tipo de células epiteliales especializadas denominadas células gustativas. Las células aquí son reagrupadas en corpúsculos formando las papilas gustativas (Guyton, 1996; Buck, 2000). La localización de estas papilas en la lengua, corresponde a la zona de detección preferencial para los cuatro sabores fundamentales, conocidos como, los sabores amargos, dulces, ácidos y salados a los cuales se añade el umami, o glutamato de sodio, una sustancia de uso corriente en la cocina asiática.



**Fig.3** Representación de las células gustativas en la lengua. Las células gustativas se agrupan en corpúsculos para formar las papilas gustativas. Existen tres tipos diferentes de papilas con localizaciones diferentes en la lengua ( www.nature.com).

Las papilas gustativas se dividen en tres clases diferentes en función de su morfología: caliciforme, foliada y fungiforme, y cada una de ellas está constituida de un número variable de corpúsculos gustativos. Se distinguen igualmente cuatro tipos morfológicamente diferentes de células gustativas al interior de cada corpúsculo: las células basales, oscuras (tipo I), claras (tipo II) e intermedias (tipo III). Las células basales son pequeñas células redondas localizadas en la base del corpúsculo a partir de las cuales son generadas todas las células gustativas (Buck, 2000). Las células oscuras, claras e intermedias, en cuanto a ellas, se caracterizan por su forma bipolar. Estas células envían, en efecto, sus prolongaciones hacia la cavidad bucal, donde ellas detectan los sabores de los alimentos y hacia la base del corpúsculo gustativo (Buck, 2000; Lindemann, 2001). A nivel de esta región baja es que las células gustativas establecen los contactos sinápticos con las fibras que las inervan (Buck, 2000; Lindemann, 2001). A saber, los nervios craneales VII (facial), IX (glossofaríngeo) y X (vago)(fig etc), donde las fibras transportan respectivamente las informaciones gustativas provenientes de la lengua, del paladar, del epiglotis y del esófago.



**Fig.4** Visión transversal de las papilas caliciformes y la estructura detallada de los corpúsculos gustativos (Pocock- Gillian et al., 2005; Brodal, 1998; Barlow, 1982).

Todos los nervios que establecen contacto con sináptico con las células gustativas convergen a nivel de la región rostral del núcleo del tracto solitario localizado en el tronco cerebral (Guyton, 1996; Buck, 2000).

Los mecanismos moleculares de transformación de los estímulos gustativos se han estudiado con ayuda de diversas técnicas experimentales de tipo electrofisiológico, bioquímico y de biología molecular. Se ha podido comprobar que cada tipo de estímulo gustativo se transforma mediante un mecanismo distinto (Kandel, 2001). El sabor corresponde a la integración de las sensaciones percibidas durante la masticación de los alimentos, en el sentido común, esto se llama el gusto de un alimento. En efecto, el sabor engloba la percepción de los olores y los gustos (salado, amargo, etc.) liberados durante la masticación, además de las sensaciones producidas por la textura, la temperatura y la astringencia (picante) de los alimentos. A nivel neurofisiológico, esta multiplicidad percibida es la resultante de la estimulación de tres sistemas sensoriales: el olfato, el gusto y el tacto, que junto con el oído y la visión, son los cinco sentidos de los que disponen los mamíferos para tener una representación del medio ambiente.

En el área nutricional, una correlación negativa se observa entre la severidad de la pérdida de la sensibilidad gustativa (disgusia), y los aportes calóricos (Kettaneh *et al.*, 2002); y ciertas formas de obesidad debido a un consumo anárquico de alimentos con alto contenido energético al parecer se asocian a un disfuncionamiento de la percepción gustativa (Stolbova *et al.*, 1999). También existe una asociación entre los desordenes del gusto y la depresión. Por una parte, los pacientes depresivos señalan frecuentemente sensaciones gustativas desagradables (Millar *et al.*, 1989) y, por otra parte, un estado depresivo es frecuente en los pacientes con disgueusia (Deems *et al.*, 1991).

Además, ciertas patologías son acompañadas de agueusia y de anosmia en particular la esquizofrenia, la enfermedad de Alzheimer y la anorexia mental donde la disgusia se vincula a una carencia en zinc que afecta el gusto (Casper *et al.*, 1980).

La percepción de las moléculas odorantes y sápidas comienza en las células receptoras especializadas a partir de las cuales la información, vía diversos circuitos neuronales, se transmite al cerebro.

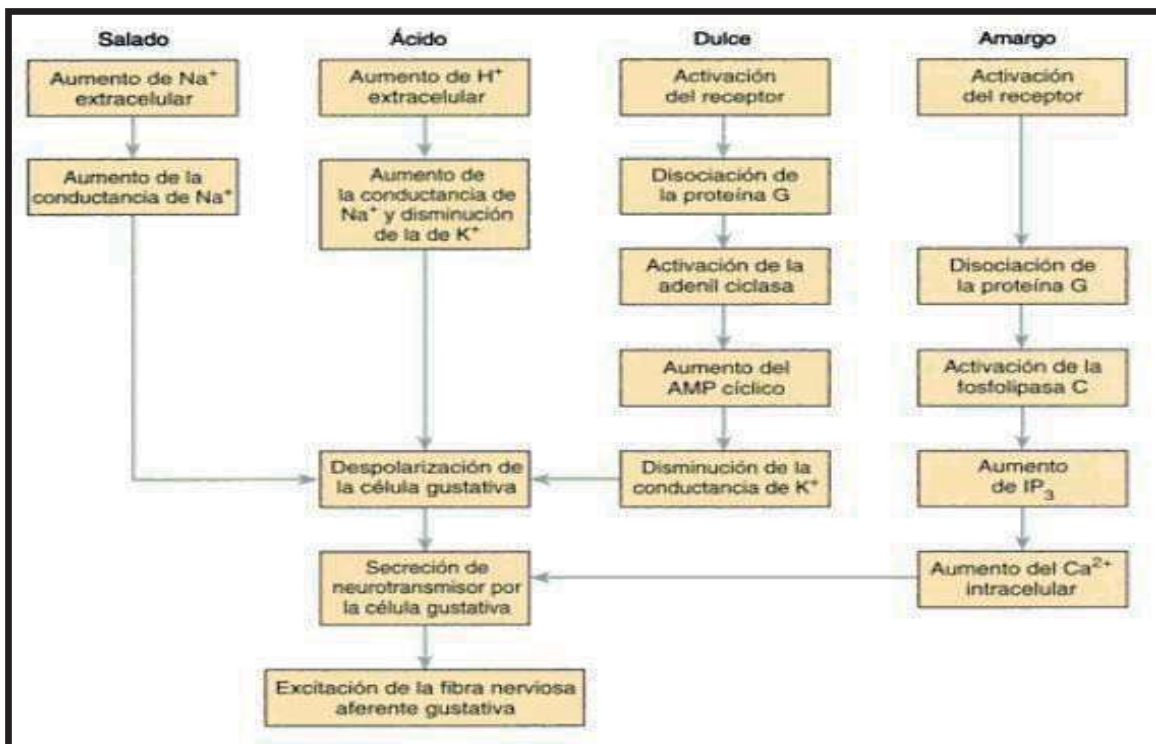
En el sistema olfativo, el primer elemento de este circuito de comunicación esta constituido por las neuronas olfativas organizadas bajo forma de epitelio en la parte posterior de la cavidad nasal. A partir de esta región la información es enviada al área olfativa de la corteza cerebral de donde es transportada a diversas estructuras del sistema límbico que modulan los efectos emocionales de los olores.

En el caso del gusto, la detección de las moléculas sápidas se efectúa gracias a las células gustativas donde la estimulación activa una red neuronal desde la lengua, el paladar y la faringe hasta la extremidad inferior de la corteza parietal. Las redes neuronales utilizadas por los sistemas olfativos y gustativos son diferentes, sin embargo, estos dos sistemas trabajan en gran parte en sinergismo.

A nivel molecular, la detección y traducción del gusto se efectúa por los intermediarios de receptores localizados en la superficie de las microvellosidades de las células gustativas.



En función de la naturaleza del sabor, el receptor activo pertenecerá, ya sea, a la familia de receptores de tipo canal, en los cuales el sitio de unión para el ligando y un canal iónico forman parte de un mismo complejo macromolecular, o bien al tipo de receptores enlazados a las proteínas G. En el caso anterior, la estimulación del receptor activa una proteína que tiene la particularidad de fijar el GTP, de allí su nombre de proteína G. Esta proteína esta constituida de tres sub-unidades ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) capaces de activar diversos sistemas de señalización intracelular. La detección y traducción de los sabores salados y ácidos se efectúan por los receptores de tipo canal mientras que los receptores acoplados a proteínas G intervienen en la detección de los sabores azucarados, amargos de igual manera que el umami.



**Fig.5** Mecanismos celulares que permiten la detección de las principales modalidades del gusto.

A continuación nos enfocaremos a describir particularmente los mecanismos de percepción del sabor umami.

La palabra japonesa umami es utilizada para designar una sensación gustativa agradable diferente del sabor dulce, del salado, del ácido, y del amargo. El sabor umami es un sabor dominante en los consomés artificiales de pollo o en algunos extractos de carne. Considerado como el quinto sabor de base, este es generado por las sales glutámicas, principalmente por el L-glutamato monosódico (compuesto ampliamente utilizado en la cocina asiática) y por algunos otros aminoácidos y péptidos.

De sabor característico en materiales naturales de las comidas, semejante como una hierba marina, un pez bonito en polvo, y un hongo seco, que son frecuentemente usados en las comidas tradicionales japonesas. Las sustancias típicamente umami son clasificadas en dos grupos basadas en la estructura química, por ejemplo, L-α-aminoácidos representados por el GLU y el otro 5'-ribonucleótidos representados por Iosina 5'-monofosfato (5'-IMP) y Guanosina 5'-monofosfato (5'-GMP). El GLU libre es encontrado en muchas comidas como es la marañán marina, queso, jamón crudo, y vegetales (tomate, semillas esféricas verdes, maíz, asparagus, y brócoli). El 5'-IMP es encontrado en bonito en polvo, pescado seco, y carne, y el 5'-GMP en hongo seco (Takashi et al., 2008). Todas estas formas originales de umami son amargas y por lo tanto obtienen sabor agrio y son menos solubles en agua. En contraste, las sales de sodio de estas sustancias muestran más sabor umami sin sabor agrio y son altamente solubles en agua. Por eso, las sales de sodio de las sustancias umami son generalmente usadas como “condimentos umami” mundiales (Takashi et al., 2008).

La participación de una forma trunca en el N-terminal del receptor metabotrópico del glutamato de tipo 4 (mGluR4t), dentro de la percepción gustativa del L-glutamato a sido sugerida. Así ha sido mostrado que este receptor está presente dentro de las células gustativas (Chaudhari *et al.*, 1996), y que cuando son expresadas en las células CHO (*chinese hamster ovary*) estas responden al L-glutamato dentro de una gama de concentraciones correspondientes a las concentraciones observadas dentro de los estudios de percepción gustativa *in vivo* (Chaudhari *et al.*, 2000).

Muy recientemente, Toyono y col. (2003) han estudiado la expresión dentro de las papilas gustativas de los otros dos miembros del grupo III de los receptores metabotrópicos (mGluR) del glutamato: mGluR1 y mGluR5. Si mGluR5 no está expresado, mGluR1 esta intensamente expresado, principalmente a nivel del poro gustativo.



De hecho, utilizando un sistema de expresión *in vitro*, a sido mostrado que las células que expresan la combinación de los receptores T1R1+T1R3 responden a la estimulación por el L-Glutamate (Nelson *et al.*, 2002 ; Li *et al.*, 2002), y que la doble inactivación de la expresión de estos receptores *in vivo*, elimina completamente las respuestas celulares y de comportamiento al sabor umami (Zhao et al, 2003).

Estos últimos resultados sugieren muy fuertemente que la percepción gustativa del sabor umami recae únicamente sobre la combinación de los receptores T1R1+T1R3.

La inactivación del receptor metabotrópico del tipo del glutamato, es seguido de una disminución de la concentración del AMPc intracelular comprometiendo una elevación de la concentración en iones  $Ca^{2+}$ , conduciendo esto mismo a la generación de una señal eléctrica transmitida al sistema nervioso aferente.

Un mecanismo de transducción intracelular del umami mete en juego la apertura o el bloqueo de los canales iónicos. Los receptores ionotrópicos al L-glutamato (iGluR) están expresados en los tejidos gustativos. Los datos de electrofisiología utilizando un inhibidor de los iGluR, el N-méthyl D-aspartate (NMDA), han confirmado que estos están igualmente implicados en la percepción del sabor umami (Linn and Kinnamon, 1999). Estos receptores son similares a los canales catiónicos que, mientras están abiertos, dejan penetrar dentro de la célula gustativa iones sodio y calcio. Este influjo induce una despolarización de las células gustativas conduciendo a la producción de una señal eléctrica dentro del nervio primario aferente.

Dado que los trastornos del olfato y del gusto rara vez constituyen una amenaza para la vida, no recibe la atención adecuada, sin embargo, estos trastornos pueden llegar a ser frustrantes ya que afecta las facultades para disfrutar la comida, bebida y aromas, también representa un riesgo para la salud ya que la capacidad de percibir sustancias químicas y gases potencialmente nocivos, está alterada. Las alteraciones quimio sensoriales pueden manifestarse como pérdida, disminución, distorsión o, rara vez incremento de la sensibilidad. La pérdida se denomina ageusia (gusto) o anosmia (olfato) y puede ser completa o específica para algún tipo de sabor u olor (Mattes, 2002).

## **II.- JUSTIFICACION**

El tolueno es una molécula que se encuentra en varios productos de uso constante, sus características físicas y químicas han mostrado que es fácilmente absorbido por el organismo, causando efectos tóxicos en función de su concentración y el tiempo de exposición al mismo. También se ha propuesto que este solvente puede activar receptores del tipo glutamatérgico a nivel del SNC, a nivel periférico no se conoce si la exposición crónica a tolueno modifica la ingesta del glutamato monosódico (umami) por lo cual planteamos la siguiente:

## **III.- HIPOTESIS**

La exposición crónica a tolueno modifica la ingesta de solución umami.

#### **IV.- OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto producido por la exposición crónica a tolueno (6000ppm) sobre la percepción del sabor umami en ratas.

#### **V.- OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Estructurar un modelo experimental de exposición crónica a tolueno sobre la percepción del sabor umami.
2. Evaluar la ingesta de solución de glutamato monosódico en ratas expuestas a tolueno en un régimen crónico.
3. Determinar los efectos de la exposición crónica a tolueno sobre la morfología y número de los corpúsculos gustativos de la papila caliciforme.

## VI.- MATERIALES Y MÉTODOS

### VI.1 ANIMALES

Se utilizaron ratas macho adultas de la cepa Wistar de entre 300 y 400 g de peso corporal, las cuales se mantuvieron bajo condiciones ambientales controladas de ciclos de luz – oscuridad de 12 hr., cada uno, humedad relativa de 80% y temperatura de 20-24°C. Se sometieron a un régimen nutricional *ad libitum* tanto de agua como de alimento purina Chow.

Para este ensayo se conto con la medición semanal de la ingesta de alimento, líquidos y peso de cada rata, antes de ser sometido a la exposición a solventes. Con la finalidad de tener una base de datos con la cual ir comparando resultados.

Los procedimientos experimentales utilizados están en acuerdo con el comité local de ética y se siguen con las regulaciones de la norma oficial mexicana (NOM) para el uso y cuidado de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

### VI.2 INGESTA DE LÍQUIDOS

Previo a la medición de la ingesta de líquidos se les colocaron dos bebederos con agua para que los animales se adaptaran a tomar indistintamente de las dos botellas. Posterior a la adaptación de los animales y un día antes de la exposición a los distintos solventes se colocaron sobre la jaula dos botellas, la primera con solución de Glutamato 120 mM y la segunda botella con agua, la medición se realizó a las 24 horas posteriores a la colocación de las botellas, ésta medición se realizó semanalmente durante un periodo de 8 semanas.

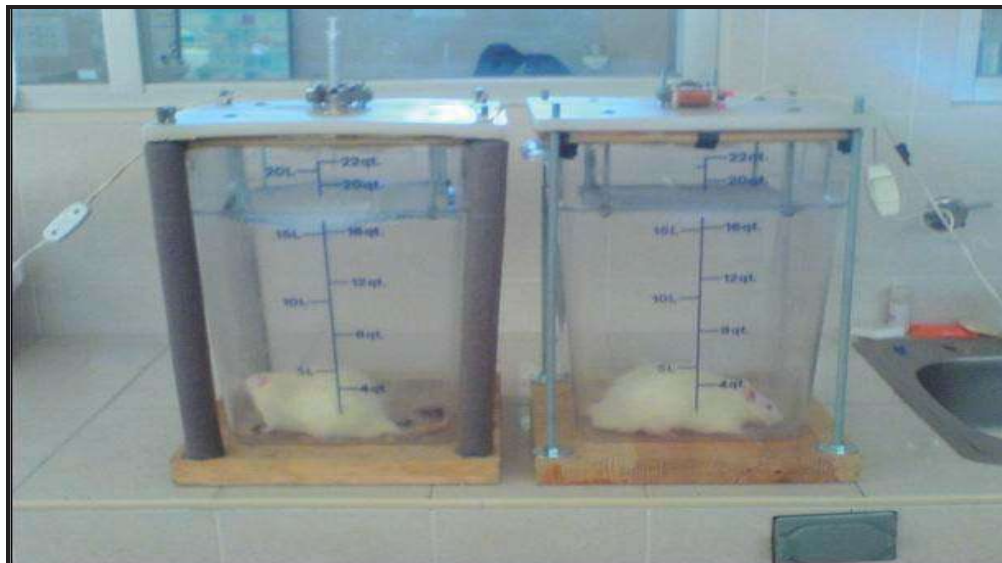
### VI.3 EXPOSICIÓN A LOS SOLVENTES

Las exposiciones se llevaron a cabo en una cámara de exposición estática sellada herméticamente. Se introdujeron los animales por separado, en una de ellas la rata solo fue expuesta al aire de un ventilador dentro de la cámara. En la 2da se inyectó un volumen determinado del disolvente equivalente a 6000 ppm., el cual se evaporó y se homogeneizó por ventilación durante 30 min, después de 6 horas se realizó una segunda exposición con el método antes mencionado. Dichas exposiciones se realizaron diariamente por un periodo de 8 semanas. Realizando las anotaciones respectivas de acuerdo a lo observado durante la exposición.

### VI.4 CÁMARA DE EXPOSICIÓN

Esta cámara esta constituida por una tapa que contiene en el centro, el puerto de inyección. En su parte externa se encuentra unido, el motor de un ventilador cuyas aspas proyectan hacia el interior de la cámara. Bajo estas aspas encontramos una malla metálica, es ahí donde por medio de un papel filtro administramos el disolvente.

Con la finalidad de que no sea una inhalación directa, si no que sea disperso. Aunado a esto evitamos la corrosión de la cámara. La dispersión de los vapores se alcanza en un tiempo menor a 1min y permanece constante los 30min de exposición.



**Fig.6** Cámara de exposición.

## VI.5 ECUACION DE NELSON

Esta ecuación propuesta en 1971, fue necesaria para calcular el volumen de disolvente necesario para las intoxicaciones.

$$V = [ ( PM * C_{ppm} * V_s ) / d ] * [ P (10^{-6}) / RT ]$$

Donde:

**V**= volumen de disolvente necesario para obtener la concentración deseada expresada en ml.

**PM**= peso molecular del disolvente en g/mol.

**C<sub>ppm</sub>**= concentración deseada en partes por millón (ppm).

**V<sub>s</sub>**= volumen de la cámara de exposición en litros.

**d**= densidad del disolvente en g/ml.

**P**= presión atmosférica (atm).

**R**= constante general de los gases (1 atm mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>).

**T**= temperatura absoluta °K.

## VI.6 FARMACOS EMPLEADOS

El tolueno (J.T. Baker), fue utilizado como la droga de abuso de exposición crónica. La concentración a la cual fueron expuestas las ratas fue de 6000ppm, concentración elegida ya que se ha observado que produce efectos conductuales claros en los animales pero con una recuperación total posterior. (Evans y Balster, 1991; Cruz et al., 2003 ).

## VII.- RESULTADOS

En la figura 7.- muestra la ingesta de alimento a lo largo de las 8 semanas de exposición a tolueno, presentaron un consumo inferior de alimento comparado con el grupo control.

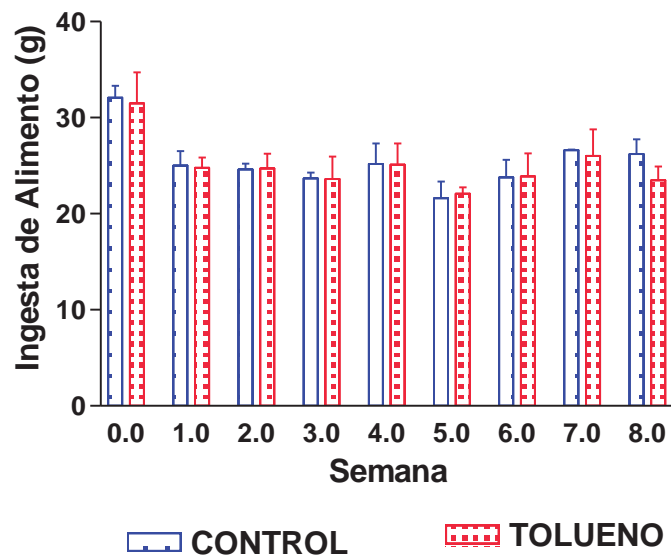
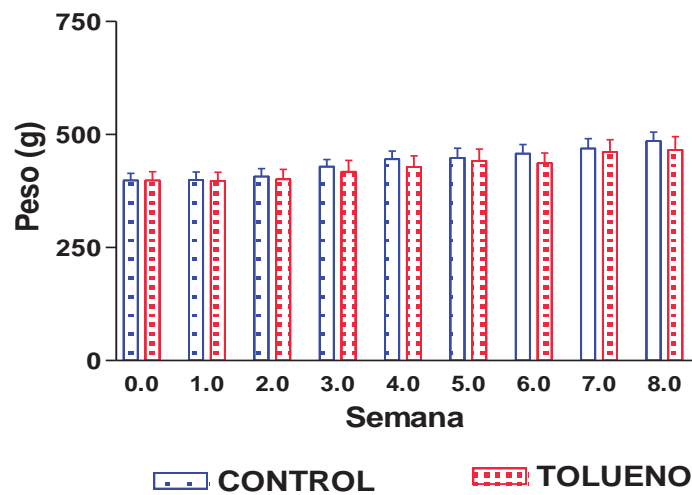


Fig.7.- Consumo de alimento durante las 8 semanas a la exposición de tolueno.

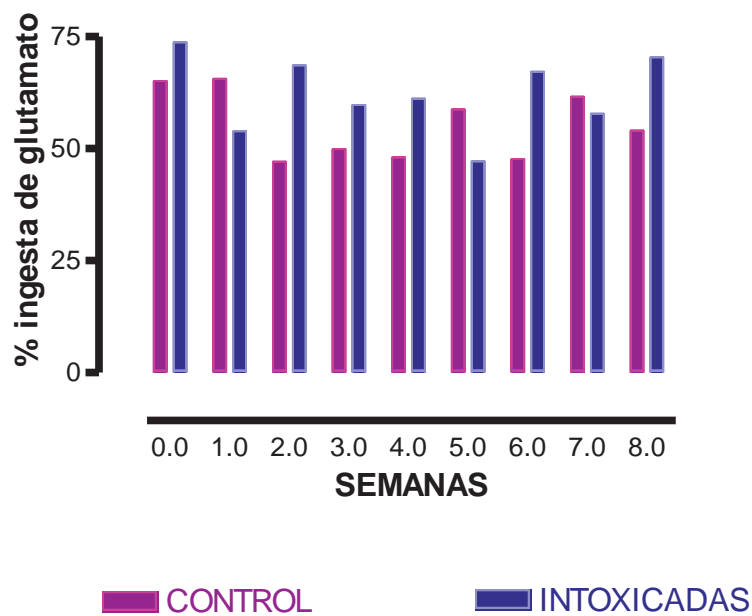
La figura 8. Muestra la comparación de peso entre las ratas expuestas a tolueno y las ratas control, mostrando las primeras en la 3, 6,7 y 8 semanas una disminución de peso en comparación con las control.



**Fig.8** Peso corporal de las ratas tratadas crónicamente con tolueno durante 8 semanas de exposición.



En la figura 9.- se observa el porcentaje de ingesta de glutamato monosodico durante las 8 semanas de exposición a tolueno. Se aprecia que las ratas del grupo expuesto a tolueno ingirieron mayor porcentaje de solución de glutamato en comparación a las control. Las semanas 1, 5 y 7 de exposición no existe diferencia con respecto al grupo control, y en la semana 0,2,3,4,6 y 8 existen cambios en el porcentaje de ingesta del grupo tratado con respecto al control.



**Fig 9.-** Porcentaje de ingesta de solución glutamato monosódico durante las 8 semanas de exposición a tolueno.

figura 10.- Número de corpúsculos gustativos de la papila caliciforme a las 8 semanas de exposición al Tolueno. Existe una disminución del número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme de las ratas expuestas al Tolueno con respecto a su grupo control.

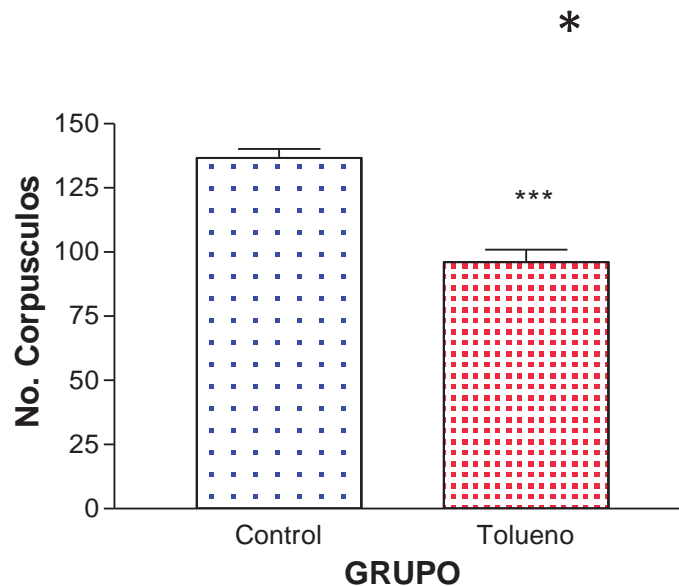
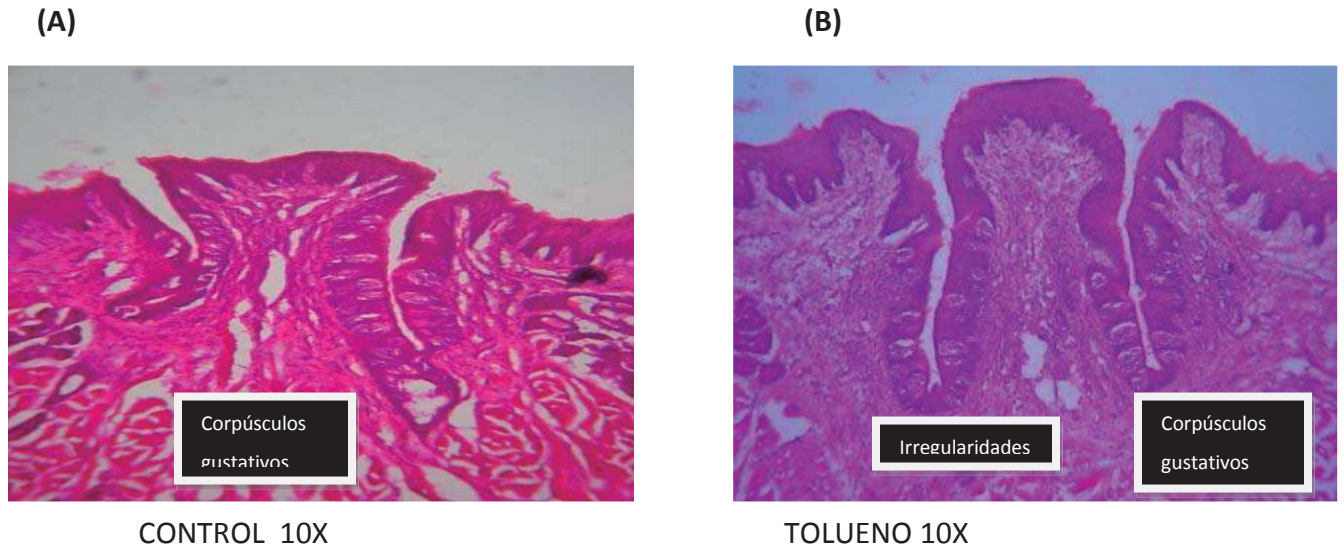
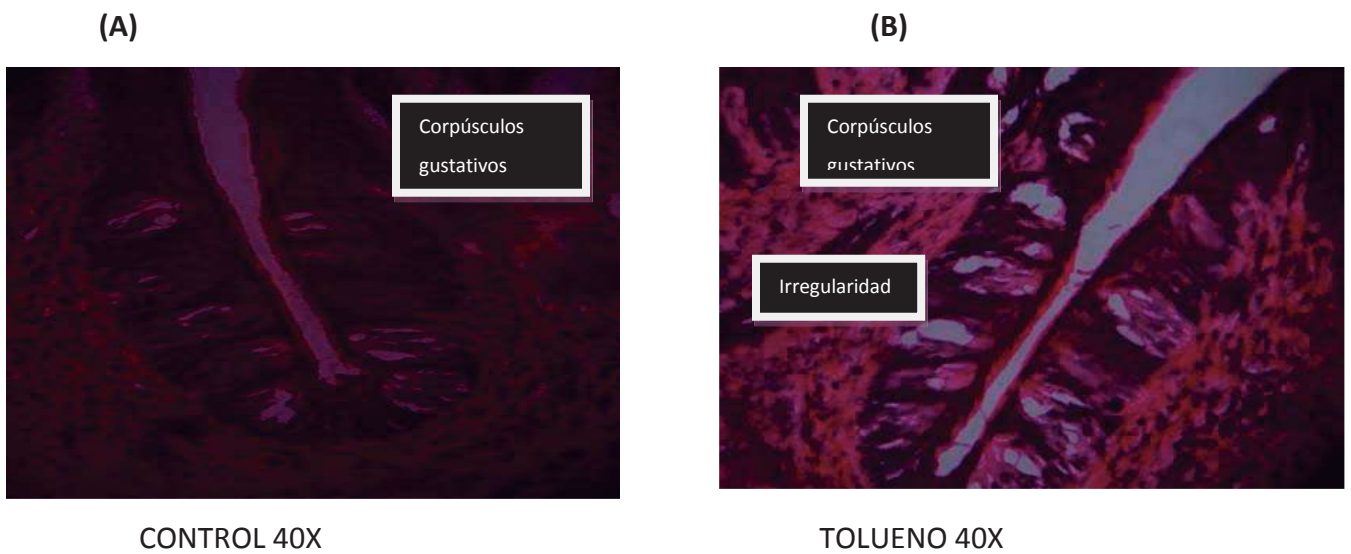


Figura 10.- Porcentaje de la ingesta de solución glutamato monosódico durante las 8 semanas de exposición al tolueno.

La figura 11.-Muestran las fotomicrográficas de la papila caliciforme de las ratas del grupo control (A) y del grupo tratado con Tolueno (B), a diferentes ampliaciones, 10X (fig. 11 (A Y B), 40X (fig.12 (A Y B) ).Se puede apreciar que la papila caliciforme del grupo expuesto al tolueno contiene menor número de corpúsculos gustativos (11 B) con respecto al grupo control (11 A) en la ampliación de 10X. A 40X se observan irregularidades en la trinchera de la papila caliciforme del grupo expuesto al tolueno (12 B) comparado con el control (12 A).



**Figura 11.** Morfología de la papila caliciforme de ratas del grupo control (A) y del grupo expuesto (B). Objetivo 10x.



**Fig 12.-** Morfología de la papila caliciforme de ratas del grupo control (A) y del grupo expuesto con tolueno (B). Amplificación 40x.

## VIII. DISCUSION

La exposición crónica a solventes produce alteraciones neurológicas como neuropatías craneales con afectación de los nervios trigémino y facial (relacionados con la percepción gustativa), encefalopatías, neuropatías periféricas entre otras [www.drogabuse.com]. Estas alteraciones se relacionan con cambios en la percepción gustativa [Sánchez-Juan, P y Combarros, O. 2001], lo que podría explicar la modificación en la conducta alimentaría de las ratas expuestas al tolueno y por ello presentaron disminución en el consumo de alimento, esto sugiere que el tolueno puede intervenir en los distintos receptores encargados de la estimulación del apetito y con esto afectar directamente en la disminución del peso corporal de las ratas como se mostró en la fig. 8. El peso es una variable importante, estudios realizados en depresores del sistema nervioso central demuestra que una de la evidencias importantes es la pérdida del apetito y esto conlleva a una disminución de peso, ocasionando una desnutrición en los animales tratados crónicamente con tolueno. Resaltando que el tiempo del tratamiento origina diferencias significativas. El aumento en el consumo de la solución de glutamato en el grupo de ratas expuestas crónicamente al tolueno comparado con las del grupo control apoya el efecto del tolueno en la alteración en la ingesta de alimentos y en un posible cambio en el funcionamiento de los receptores, en este caso a los receptores glutamatérgicos tanto a nivel central como a nivel periférico en la papila caliciforme, se requiere realizar experimentos de biología molecular, específicamente de RT-PCR para determinar si el cambio es debido a alteración en la expresión de receptores para el sabor umami (glutamato monosódico). En cuanto a la morfología de la papila caliciforme los resultados sugieren que la exposición crónica al tolueno disminuye la densidad celular del corpúsculo gustativo y se promueven cambios hipertróficos de la papila caliciforme, probablemente este efecto es derivado de la alteración en la innervación de la papila caliciforme, para determinar si efectivamente están relacionados estos cambios con hipertrofia de los nervios periféricos es necesario realizar técnicas de inmunohistoquímica para observar la innervación de la papila.

En relación a los resultados obtenidos con la reducción del número de corpúsculos gustativos, podría estar relacionado el efecto con hipotrofia del nervio periférico, los corpúsculos gustativos se encuentran en constante recambio o regeneración cada 10 - 15 días y probablemente este recambio no se efectuó ya que las células que promueven el recambio están disminuidas como se aprecia en la fotomicrografías.

## **IX.CONCLUSIONES**

La exposición crónica con tolueno altera la plasticidad de los corpúsculos gustativos en la papila caliciforme de la rata.

La exposición crónica con tolueno, genera alteraciones conductuales, nutricionales, y ocasiona variaciones en el peso de las ratas tratadas con tolueno.

## X.- BIBLIOGRAFIA

- ❖ Aistrup, G, L., Marszalec, W., Narahashi, T. (1999). Ethanol modulation of nicotinic acetylcholine receptor currents in cultured cortical neurons. *Mol pharmacol.* 55: 39-49.
- ❖ Allan, A, M., Harris R, A. (1986) Gamma-aminobutyric acid and alcohol actions; neurochemical studies of long sleep and short sleep mice. *Life Sci*, 39:2005-2015.
- ❖ Arlien-Søborg, P. (1992) Solvent neurotoxicity. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 61-106.
- ❖ Aston-Jones, G, S., Siggins, G, R. (1985): Electrophysiology. En: *Psychopharmacology the fourth generation of progress*. Bloom FE, Kupfer DJ (Eds). Raven Press, Nueva York.
- ❖ ATSDR. (1994). Agency for toxic substances and disease registry. U.S. Department of health and human services. Toxicological profile for toluene. Atlanta, Georgia. pp. 1-111.
- ❖ Bale, A, S., Smothers C, T., Woodward J, J. (2002). Inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by the abused solvent, toluene. *British Journal of Pharmacology*. 137: 375-383.
- ❖ Balster, R, L. () Neural basis of inhalant abuse. *Drug and Alcohol Dependence*. 51: 207-
- ❖ Barlow, H, B., Mollon, J, D., eds. (1892). The senses. Cambridge: Cambridge University Press, (fisiologia).
- ❖ Bowen, S, E., Balster, R, L. (1998). A direct comparison of inhalant effects on locomotor activity and schedule-controlled behavior in mice. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*. 6 (3): 235-247.
- ❖ Brodal, P. (1998). The nervous system. Structure and function. Oxford: oxford University Press. (caps. 4-6,13). 2nd ed.
- ❖ Buck, L. B. (2000). The molecular architecture of odor and pheromone sensing in mammals *Cell* 100: 611-8.
- ❖ Buck, L.B. (2000). Smell and taste: The chemical senses. In Kandel E.R, Schwartz, J.H. and Jessell, T.M. *Principles of Neuronal Science*. McGraw-Hill, New York, 625-647.
- ❖ Casper R.C., Kirschner, B., Sandstead, H, H., Jacob, R, A., and Davis, J,M. (1980). An evaluation of trace metals, vitamins, and taste function in anorexia nervosa. *Am J Clin Nutr* 33:1801-8.
- ❖ Chaudhari, N., Landin, A, M., Roper, S,D. (2000). A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor. *Nat Neurosci* 3: 113-119.
- ❖ Chaudhari, N., Yang, H., Lamp, C., Delay, E., Cartford, C., Than, T., and Roper, S. (1996). The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds. *J Neurosci*. 16: 3817-3826.

- ❖ Cruz, S, L., Balster, R,L., Woodward, J, J.(2000). Effects of volatile solvents on recombinant N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *British Journal of Pharmacology*. 131: 1303-1308.
- ❖ Cruz, S,L., MIRSHAHI, T., THOMAS, B., BALSTER, R,L., and WOODWARD, J,J.(1998). 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.
- ❖ Chaudhari, N., Landin, A, M., Roper, S,D. (2000). A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor. *Nat Neurosci* 3: 113-119.
- ❖ Chaudhar, N., Yang, H., Lamp, C., Delay, E., Cartford, C., Than, T., and Roper, S. (1996). The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds. *J Neurosci*. 16: 3817-3826.
- ❖ Deems, D,A., Doty, R,L., Settle, R,G., Moore-Gillon, V., Shaman, P., Mester, A,F., Kimmelman, C,P., Brightman,V,J., and Snow, J,B Jr. (1991). Smell and Taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste Center. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 117:519-28.
- ❖ Dinwiddie, S.H. (1994). Abuse of inhalants: a review. *Addiction*. 89: 925-939.
- ❖ Evans, E.B., Balster, R.L. (1991). CNS depressant effects of volatile organic solvents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 15: 233-241.
- ❖ Echeverria, D., Fine, L., Langolf, G., Schork, T., and Sampaio, C. (1991). Acute behavioural comparisons of toluene and ethanol in human subjects. *British Journal of Industrial Medicine*. 48: 750-761.
- ❖ Flanagan, R.J. (1994). Volatile solvent abuse. *Bull narcotics* 46:49-78.
- ❖ Guyton, A.C. (1996). *Précis de Physiologie Médicale*. Piccin Nuova Libreria, Padoue, Italie.
- ❖ Himnan, D.J. (1984). Tolerance and reverse tolerance to toluene inhalation: Effects on open-field behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 21: 625-631.
- ❖ Hobbs, W.R., Rall, T.A. (1996). Hypnotics and Sedatives; Ethanol. En: *Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Hardman JG y Limbird LE (eds.) 9ª. edición. McGraw-Hill. pág. 361-398.
- ❖ Kandel, Eric. R., Schwartz, James. H., Jessell, Thomas M. (2001). *Principios de Neurociencia* 4ta. Edición. Editorial McGraw-Hill – Interamericana. Pág. 636.
- ❖ Kettaneh, A., Fain, O., Stirnemann, J. et Thomas, M. (2000). Les troubles du goût. *Rev Meds Interne*; 23:622-631.
- ❖ Kosel, N., SLOBODA Z, DE LA ROSA M., (eds) (1995). Epidemiology of inhalant abuse: An International Perspective. NIDA RES. Monograph series n°. 148. Department of health and human services, Rockville.

**“PERCEPCION GUSTATIVA DEL SABOR UMAMI EN RATAS EXPUESTAS CRONICAMENTE A TOLUENO”**

---

- ❖ Lindemann, B. (2001). Receptors and Transduction in Taste. *Nature* 413: 219-225.
- ❖ Lin W., Kinnamon, S.C. (1999). Physiological evidence for ionotropic and metabotropic glutamate receptors in rat taste cells. *J Neurophysiol.* 82: 2061-9.
- ❖ Li X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M., and Adler, E.(2002). Human receptors for sweet and umami taste. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99: 4692-4696.
- ❖ López-Rubalcava, C., Hen, R., Cruz, S.L. (2000). Anxiolytic-like actions of toluene in burying behavior and plus-maze tests: differences in sensitivity between 5-HT<sub>1B</sub> knockout and wild-type mice. *Behavioral Brain Research.* 115 (1): 85-94.
- ❖ Lorenzana, Jimenez, M., Salas, M.(1985). Effects of neonatal toluene exposure on the development of evoked and spontaneous cortical activity in the rat. *Neurobehav toxicol teratol,* 7: 215-220.
- ❖ Lovinger, D.M., WHITE, G., WEIGHT, F.F. (1989). Ethanol inhibits NMDA-activated ion current in hippocampal neurons. *Science,* 243:1721-1724.
- ❖ Lovinger, D.M. (1991). Ethanol potentiates ion current mediated by 5-HT<sub>3</sub> receptors on neuroblastoma cells and isolated neurons. *Alcohol Alcohol Suppl,* 1:181-185.
- ❖ Marjot, R., McLeod, A.A. (1989). Chronic non-neurological toxicity from volatile solvent substance abuse. *Human Toxicology.* 8: 301-306.
- ❖ Mattes, R.D., Cowart, B.J. (1994). Dietary assessment of patients with chemosensory disorders. *J Am Diet Assoc* 94: 50-56.
- ❖ Mattes, R.D. (1997). Physiologic responses to sensory stimulation by food: nutritional implications. *J Am Diet Assoc* 97:406-413.
- ❖ Medler, K. (2008). Signaling Mechanisms Controlling Taste Cell Function. Department of Biological Sciences, University at Buffalo, The State University Of New York, Buffalo, NY 14260, USA. kmedler@buffalo.edu. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 18 (2):125-137.
- ❖ Miller, S.M., Naylor, G.J. (1989). Unpleasant taste a neglected symptom in depression. *J Affect Disord* 17:291-293.
- ❖ Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M.A., Feng, L., Zhao, G., Ryba, N.J., and Zuker, C.S. (2002). An amino-acid taste receptor. *Nature* 416 :199-202.
- ❖ Pocock, Gillian., D, Richards, Christopher. (2005). *Fisiología Humana: La base de la Medicina.* 2da Edición. Editorial Elsevier. Pág. 245. España.
- ❖ RBL (Roche Biomedical Laboratories) (1992). Aromatic solvents. Technical Review, RBL, USA, p. 1.
- ❖ Stolbova, K., Hahn, A., Benes, B., Andel, M., and Treslova, L. (1999). Gustometry of Diabetes Mellitus Patients. *Int Tinnitus J* 5:135-140.



**“PERCEPCION GUSTATIVA DEL SABOR UMAMI EN RATAS EXPUESTAS CRONICAMENTE A  
TOLUENO”**

---

- ❖ Takashi. Kondoh., Kunio, Torii.(2008). Brain Activation by Umami Substances via Gustatory and Visceral Signaling Pathway, and Physiological Significance. Institute of Life Sciences, Ajinomoto Co. Inc.; 1-1 Suzuki-cho, Kawasaki, Kawasaki 210-8681. Japan.
- ❖ Wood RW, Coleman, JB, Schuler R, Cox C. (1984). Anticonvulsant and antipunishment effects of toluene. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 230: 407-412.
- ❖ National Institute on drug Abuse (NIDA): Inhalant abuse. En: <http://www.nida.gov/researchreports/inhalant>, 1999.