



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA

TESIS

**“EFECTO DEL BENCENO SOBRE LA PERCEPCIÓN DEL
SABOR UMAMI”**

TESIS QUE PRESENTA:

BARUC CAMPOS CAMPOS

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

ASESOR DE TESIS: D.C. ROSALÍO MERCADO CAMARGO

CO ASESOR DE TESIS: D.C. MARCIA YVETTE GAUTHEREAU TORRES

**Este trabajo de tesis fue parcialmente apoyado por: CIC-U.M.S.N.H. 26.2, (2010) y
Programa de investigación COECyT 2008.**

JUNIO- 2010

Este trabajo de tesis fue parcialmente apoyado por: CIC-U.M.S.N.H. 26.2, (2010) y Programa de investigación COECyT 2008.

DEDICATORIA

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento a las personas e instituciones que de manera directa e indirecta hicieron posible la realización del presente trabajo, entre las cuales se encuentra el D.C. Rosalío Mercado Camargo y la D.C. Marcia Yvette Gauthereau Torres, los laboratorios de Neurobiología y Farmacología de la Facultad de Q.F.B., al Hospital Civil de esta ciudad capital por permitirnos el uso de su equipo de criostato, a la CIC-UMSNH y al COECyT por el apoyo otorgado.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
Lista de abreviaturas.....	7
I. RESUMEN.....	9
II. ABSTRACT.....	10
III. INTRODUCCIÓN.....	11
III.1. Disolventes inhalables.....	11
III.1.1. Impacto socioeconómico.....	13
III.1.2. Peligros para la salud.....	15
III.1.3. Mecanismos celulares de acción de los disolventes de abuso.....	17
III.1.4. Benceno.....	22
III.2. SISTEMA GUSTATIVO.....	33
III.2.1. Sistemas y modalidades sensoriales.....	33
III.2.2. Clasificación de los receptores sensoriales.....	35
III.2.3. Bases anatómicas del gusto.....	38
III.2.4. La vía gustativa.....	45
III.2.5. Mecanismos de transducción en la célula gustativa.....	47
III.2.6. Estímulos gustativos.....	49
III.2.7. Mecanismos de transducción sensorial gustativa.....	50
III.3. ALTERACIONES EN LA PERCEPCIÓN GUSTATIVA.....	60
III.3.1. Manifestaciones clínicas y examen funcional del gusto.....	60
III.3.2. Diagnostico etiológico de las alteraciones gustativas.....	61

IV. INHALABLES DE ABUSO Y CONSUMO DE ALIMENTO.....	66
V. HIPÓTESIS.....	67
VI. OBJETIVO GENERAL.....	67
VII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	67
VIII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	67
VIII.1. Manejo de animales.....	67
VIII.2. Exposición crónica a benceno.....	68
VIII.2.1. Determinación del volumen de benceno administrado.....	69
VIII.3. Prueba de la ingesta de solución de UMAMI.....	70
VIII.4. Técnica de inmunohistoquímica.....	70
VIII.5. Análisis estadístico.....	70
IX. RESULTADOS.....	71
X. DISCUSIÓN.....	76
XI. CONCLUSIONES.....	79
XII. REFERENCIAS.....	80

Lista de Abreviaturas

AMPc: Adenín Monofosfato cíclico.

Am: Amígdala.

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

AVT: Área Ventral Tegmental

Bo: Bulbo olfatorio.

Ca²⁺: iones calcio.

cDNA: DNA complementario.

CI₅₀: Concentración inhibitoria 50.

Cg: Células granulares.

Cm: Células mitrales.

Co: Células olfatorias.

Cp: Células de penacho.

Cs: Células de soporte.

CPi: Corteza piriforme.

Cxe: Corteza entorrinal.

DHHS: Departamento de Salud y Servicios Humanos (Siglas en inglés)

EPA: Agencia de Protección del Medio Ambiente (Siglas en inglés).

EEUU: USA.

GABA_A: Ácido gama amino butírico.

Go: Glomérulos Olfatorios.

GMP: Guanín Monofosfato, GMS: Glutamato Monosódico

H⁺: iones hidrogeno.

IARC: Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. (Siglas en inglés).

IMP: Inositol Monofosfato.

IP₃: Inositol Trifosfato.

i.p: intraperitoneal.

i.v: intravenosa.

K⁺: iones potasio.

KCl: Cloruro de potasio.

M: molar

MBC: Metilbutilcetona.
Mb: Membrana basal.
MEC: Metiletilcetona.
mg: miligramos.
ml: mililitros.
Mo: Mucosa olfatoria.
mRNA: RNA mensajero.
 μg : microgramos.
 μM : micromolar.
 Na^{+2} : iones sodio.
NaCl: Cloruro de sodio.
NF: Nervio Facial.
NG: Nervio Glosofaríngeo.
NMDA: N-metil-D-aspartato.
NTS: Núcleo del Tracto Solitario.
NV: Nervio Vago.
Pc: placa cribosa.
ppb: partes por billón.
ppm: partes por millón.
pS: Picosiemens (10^{-12} , conductancia electrica)
RMN: Resonancia Magnética Nuclear.
ROS: Especies Reactivas de Oxigeno (Siglas en ingles)
SNC: Sistema Nervioso Central.
TAC: Tomografía Axial Computarizada.
TCE: 1,1,1-tricloroetano
TrO: Tracto Olfatorio.
TuO: Tubérculo Olfatorio.
Uma: unidad de masa atómica.
VPM: Núcleo Medial Posterior Ventral del Tálamo.
5-HT₃: Receptores serotoninérgicos.

I. RESUMEN

El sistema gustativo se encarga de detectar el sabor de los alimentos, está formado a nivel periférico por las papilas gustativas localizadas en la lengua y, éstas a su vez están compuestas por corpúsculos gustativos que contienen las células con receptores específicos para las diferentes modalidades gustativas; a nivel del sistema nervioso central está constituido por el nervio vago, el nervio glossofaríngeo y el nervio facial. Por otro lado, los inhalables de abuso son sustancias volátiles que son utilizadas para producir un estado alterado de la conciencia; en la mayoría de los casos, los productos comerciales que son sujeto de inhalación son mezclas complejas de disolventes como tolueno, benceno y xileno, entre otros. 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. Por lo anterior, en el presente trabajo de tesis nos propusimos determinar el efecto de la exposición crónica a benceno sobre la percepción del sabor umami y sobre el número de corpúsculos gustativos de la papila caliciforme de la rata. Para cumplir este objetivo se formaron dos grupos de ratas: uno control y otro tratado durante 8 semanas con 6000 ppm de benceno. Los resultados muestran que las ratas expuestas a benceno cambian su percepción a la ingesta de glutamato monosódico, muestran disminución en el peso corporal y en la ingesta de alimento y, una disminución en el número de corpúsculos gustativos del grupo control con respecto al grupo expuesto a benceno. Esto sugiere que la exposición crónica a benceno modifica la conducta alimentaria tanto a nivel central como a nivel periférico.

II.ABSTRACT

The taste system plays an important role in detection of food taste, peripherically it is formed by the taste papillae located in the tongue and these papillae are composed by taste buds which contain the cells with specific receptors for the different taste modalities, these papillae are innervated by the vague nerve, gloss pharyngeal nerve and facial nerve. On the other hand, the abused inhalants are volatiles substances that produce an altered state of the conscience; in the most cases, the commercial products that are considered inhalants are complex mixtures of solvents like toluene, benzene and xylene, between others. Epidemiologist data suggest that the chronic exposure to abused inhalants can produce loss of appetite; however, the mechanism involved in these effects is unknown. Therefore, in the present work we studied the effect of chronic exposure to benzene on the plasticity of the caliciform papillae. The results show that rats exposed to benzene change their perception to glutamate monosodium and they show a decrease in body weight, in food intake, and on the number of taste buds in benzene-exposed group with respect to control group. These results suggest that chronic exposure to benzene modifies the plasticity of taste buds.

III. INTRODUCCIÓN

III.1 DISOLVENTES INHALABLES

Los inhalables son vapores o sustancias químicas que se respiran y producen efectos psicoactivos (alteran la mente), (www.drogabuse.gov) que se definen más por su modo de administración que por su mecanismo de acción o farmacología. Excluyendo a otras sustancias que también se inhalan como el tabaco, la marihuana, el opio o la cocaína, aquí se incluye más bien a un grupo de sustancias volátiles (esto quiere decir que su punto de ebullición es bajo, o en otras palabras, se evaporan a temperatura ambiente) y rara vez se administran por otra vía que no sea la inhalación (NIDA).

Una variedad de productos que se encuentran comúnmente en la casa y en el trabajo contienen sustancias que se pueden inhalar. Muchas personas no consideran productos tales como las pinturas en aerosol, los pegamentos y los líquidos de limpieza, como drogas, ya que nunca se crearon con la intención de que se usaran para obtener un efecto recreativo. Sin embargo los niños y los adolescentes jóvenes los pueden obtener fácilmente y son los que tienen más probabilidad de abusar de estas sustancias extremadamente tóxicas. (www.drogabuse.gov).

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 recreativos. Más tarde los avances en la petroquímica llevaron a la producción de diversas sustancias, que posteriormente se utilizaron para diversos fines, entre ellos la drogadicción, en todo el mundo.

En México los primeros estudios sobre inhalables se publicaron a finales de la década de los 70s; estas sustancias, junto con la marihuana, fueron las que más mexicanos habían consumido (sin incluir el tabaco y el alcohol). El abuso de inhalables sigue siendo un problema de salud pública que afecta principalmente a grupos marginados, pero que se ha observado en todos los estratos sociales, siendo los niños y los adolescentes de las clases sociales más pobres quienes eligen estas sustancias altamente tóxicas, para utilizarlas con fines recreativos. Esta práctica les provoca graves secuelas para la salud, ya que se encuentran en los años de desarrollo y consolidación de las principales funciones de la personalidad (www.mex.ops-oms.org.com).

Actualmente, uno de los principales problemas de abuso de drogas es el de los inhalables, ya que éstos pueden encontrarse en el ámbito laboral, lo cual no es nada trivial, pues implica a miles de trabajadores de la industria petrolera, la química, las imprentas, las gasolineras, a los pintores, carpinteros, zapateros, etc. (NIDA).

Los inhalables se clasifican en 3 grandes categorías:

Los 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

Refrigerantes, aerosoles y anestésicos, los gases usados en productos caseros o comerciales, incluyendo los encendedores de butano y los tanques de gas propano, los aerosoles o dispensadores "whippets" de crema batida, los gases anestésicos de uso médico, como el éter, el cloroformo, el halotano y el óxido nitroso (gas hilarante). (NIDA).

Los nitritos

Los nitritos alifáticos, incluyendo el nitrito 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 los nombres de limpiador de videos, desodorante ambiental, limpiador de cuero, o aroma líquida. (www.drogabuse.gov).

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

III.1.1. IMPACTO SOCIOECONÓMICO

En general, los usuarios de disolventes volátiles pertenecen a las poblaciones marginadas; sin embargo, a partir de la década de 1980, se observó un incremento del consumo en todos los niveles socioeconómicos. Los principales usuarios son niños y adolescentes, siendo frecuentemente los disolventes volátiles la primera droga de abuso que consumen en edades de 6 a 15 años, pero deja de ser la droga de preferencia alrededor de los 14 - 15 años de edad, dando paso al uso de otras drogas como el alcohol y la marihuana. Aún cuando predomina la población masculina en el uso de disolventes volátiles, se han reportado incrementos importantes por parte de la población femenina, a nivel nacional y en sectores específicos de la población, como son las jóvenes estudiantes, las niñas y adolescentes trabajadoras. Es importante mencionar que si bien los principales inhaladores son los actualmente llamados “niños en situación de calle”, los cuales han abandonado sus hogares y la escuela, y que usan los espacios públicos para sobrevivir realizando actividades de subempleo, hay menores que trabajan y viven en la calle que no consumen drogas, así como también hay niños que viven con sus familias, que asisten a la escuela y que tienen un consumo frecuente de inhalables y de otras drogas. Según algunos estudios realizados; la edad de inicio y el tiempo que lleven de trabajar los menores en la calle es importante, ya que aumenta la probabilidad de que empiecen a inhalar a una edad más corta. (www.mex.ops-oms.org.com)

A pesar del gran número existente de inhalables, no todos ellos 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).

Cada día se conoce más acerca de los mecanismos celulares de acción de los inhalables; sin embargo, todavía quedan muchos estudios por realizar. Sus características físicoquímicas, particularmente las de alta solubilidad en grasas y pequeño tamaño, hacen que después de inhaladas se distribuyan ampliamente en todo el cuerpo, y atraviesen las membranas de todo tipo de células. Se sabe que no actúan sobre un tipo de receptor específico, sino más bien se propone que actúan sobre diferentes tipos de receptores (Dinwiddie y Flanagan, 1994).

El efecto agudo de la exposición a disolventes es semejante a la ingesta de alcohol, ya que se observa una excitación inicial que se convierte en desinhibición, con una sensación de ligereza, euforia y agitación. Cuando la dosis aumenta se puede observar ataxia, disminución de los reflejos, mareo y desorientación. En casos de exposición severa se produce debilidad muscular, alteraciones del lenguaje, nistagmus (los ojos oscilan en forma involuntaria), delirio y ocasionalmente alucinaciones con conductas francamente alteradas. Algunas horas después, el sujeto puede despertarse con dolor de cabeza, letargo, incoordinación muscular, desorientación, etc. El cuadro dependerá del disolvente en particular, aunque frecuentemente los sujetos se administran mezclas de ellos, lo que hace casi imposible adjudicar los efectos a un solo agente. Esta interacción de disolventes es significativa, no sólo porque la mezcla puede dar efectos mayores que los producidos por las sustancias aisladas, sino también porque pueden producirse metabolitos activos o cuya presencia potencie a otros. Por ejemplo, el hexano produce dos metabolitos: la metilbutilcetona (MBC) y la metiletilcetona (MEC). Sola esta última no es tóxica, pero combinada con la MBC o el hexano mismo, potencia el efecto de los otros metabolitos. (www.bibliotecadigital.ilce.edu.mx)

III.1.2.PELIGROS PARA LA SALUD

La aspiración de cantidades muy concentradas de las sustancias químicas en los disolventes o los aerosoles puede inducir un fallo cardíaco y la muerte a los pocos minutos de una sesión de uso prolongado. Este síndrome, conocido como "muerte súbita por inhalación", puede resultar de una sola sesión de uso de inhalables por una persona joven que de otro modo es saludable. La muerte súbita por inhalación está particularmente asociada con el abuso del butano, del propano, del tolueno, del 1,1,1-tricloroetano y los químicos en los aerosoles (www.drogabuse.gov).

Las concentraciones altas de inhalables también pueden causar la muerte por asfixia al desplazar el oxígeno de los pulmones y enseguida del SNC, de manera que se detiene la respiración. Cuando se inhala deliberadamente de una bolsa de papel o de plástico o en un área cerrada, se aumenta enormemente la probabilidad de asfixia. Aún cuando se empleen los aerosoles o productos volátiles para sus usos legítimos (por ejemplo, la pintura o la limpieza), se aconseja que esto se haga en un cuarto bien ventilado o en el exterior (www.drogabuse.gov).

El abuso crónico de los disolventes puede causar daños severos de larga duración al cerebro, al hígado y a los riñones. (Kozel et al. 1995).

Efectos dañinos e irreversibles:

- Pérdida de la audición: tolueno (pinturas en aerosol, pegamentos, removedores de cera) y tricloroetileno (líquidos de lavado en seco y líquidos correctores).
- Neuropatías periféricas o espasmos de las extremidades: hexano (pegamentos, gasolina) y óxido nitroso (crema batida en aerosol y cilindros de gas).
- Daño al sistema nervioso central: tolueno (pintura en aerosol, pegamentos y removedores de cera).
- Daño a la médula ósea, función inmunológica, aumento del riesgo de contraer leucemia y toxicidad del sistema reproductivo: benceno (gasolina).

Efectos graves, pero posiblemente reversibles:

- Daño al hígado y a los riñones: sustancias que contienen tolueno e hidrocarburos clorados (líquidos correctores y de lavado en seco).
- Agotamiento del oxígeno en la sangre: nitritos alifáticos y cloruro de metileno (removedores de barnices y diluyentes de pintura). (www.drogabuse.gov)

En general a nivel neurológico, los efectos tóxicos de los inhalables son de carácter difuso en sus manifestaciones, no muestran alteraciones focales, de manera que pueden confundirse con trastornos metabólicos, degenerativos, nutricionales o desmielinizantes, que también son difusos. Además, el daño es difícil de detectar, aún con las técnicas modernas de imagenología, como la tomografía computarizada, estudios electrofisiológicos de conducción nerviosa o resonancia magnética nuclear. (www.drogabuse.gov)

Los efectos asociados a la exposición aguda severa o a la crónica leve con disolventes orgánicos, son en general reversibles. Los daños graves e irreversibles ocurren usualmente en casos de exposición severa (concentraciones varios cientos de veces más altas que las existentes en un medio laboral), durante largo tiempo, condiciones que sólo se presentan en el contexto del abuso de drogas. Algunas de las manifestaciones del daño neurológico pueden ser parcialmente reversibles cuando se suspende la inhalación, es decir, si el sujeto deja de inhalar, la toxicidad se interrumpe y no avanza más. (www.drogabuse.gov)

Los principales síndromes neurológicos producidos por los disolventes orgánicos son los siguientes:

- a) Encefalopatía: aguda o crónica, dependiendo del nivel y tiempo del consumo.
- b) Ataxia cerebelosa: manifestada básicamente por trastornos del equilibrio y de los movimientos oculares.
- c) Neuropatía periférica: los nervios de las extremidades degeneran a partir de la periferia, en dirección del centro (axonopatía distal); se observa pérdida de la sensibilidad, sin dolor.
- d) Neuropatía craneal: con afectación de los nervios trigémino y facial.
- e) Parkinsonismo.

f) Pérdida de visión (neuropatía óptica).

g) Alteraciones multifocales: demencia, ataxia, espasticidad, disfunción de estructuras del tallo cerebral, etc. (www.drogabuse.gov).

El pronóstico de recuperación depende directamente de la gravedad del déficit neurológico y el momento de la suspensión de consumo del disolvente. En casos severos, la recuperación puede tomar varios años.

A nivel sanguíneo, algunos disolventes pueden aumentar peligrosamente los niveles de carboxihemoglobina, forma anormal de hemoglobina incapaz de transportar oxígeno. El benceno, que se encuentra en el *thinner*, removedores de barniz y en algunas gasolinas puede producir anemia y leucemia aguda. (www.drogabuse.gov)

III.1.3. MECANISMOS CELULARES DE ACCIÓN DE LOS DISOLVENTES DE ABUSO

A pesar de su importancia, durante mucho tiempo se relegó el estudio de estas 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).

Observando el proceso de intoxicación de los usuarios y gracias a estudios conductuales realizados con animales de laboratorio, se estableció que los disolventes tenían efectos similares a los de los depresores clásicos del Sistema Nervioso Central como los barbitúricos, las benzodiacepinas y el alcohol. (Evans y Balster, 1991). Con base en ello se propuso que estas sustancias podrían compartir algunos mecanismos de acción.

Durante mucho tiempo se aceptó la hipótesis que consideraba que los anestésicos tenían un mecanismo de acción inespecífico dado por su capacidad de penetrar la membrana y producir cambios en su fluidez. Durante 80 años esta teoría gozó de gran aceptación porque parecía establecer una excelente correlación entre el coeficiente de partición y la eficacia de varios de los compuestos estudiados. Con el tiempo la misma teoría se aplicó por extensión a los disolventes orgánicos industriales (Paéz-Martinez et al., 2003).

Gradualmente se acumularon pruebas en contra de que el etanol actuara por este mecanismo. No es de sorprender que a finales de la década de 1980 aparecieran los primeros trabajos que presentaban hipótesis alternativas. En 1986, Allan y Harris, reportaron que el etanol actúa como agonista del receptor ionotrópico GABA_A en membranas de cerebelo de ratón en concentraciones menores que las requeridas para alterar la fluidez membranal. En estudios posteriores se demostró que el etanol también inhibe selectivamente receptores glutamatérgicos ionotrópicos del tipo NMDA en concentraciones relevantes para el consumo humano. A partir de entonces, se inició 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

Receptor	Efecto	Referencia
NMDA	Inhibición de receptores AMPA y Kainato	(Lovinger, et al. 1989)
GABA _A	Aumento de la función	(Allan y Harris, 1986)
Glicina	Aumento de la función	(Celentano, et al. 1988)
Nicotínicos	Activación	(Aistrup, et al. 1999)
5-HT ₃	Potenciación de la función	(Lovinger, 1999)
Ca ²⁺	Inhibición de canales de Ca ²⁺ activados por voltaje	(Wang, et al. 1994)
K ⁺	Inhibición de los canales de K ⁺	(Covarrubias, et al. 1995)

(Modificada de Páez- Martínez, et al. 2003)

EFECTOS SOBRE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS

Para estudiar los efectos de distintos disolventes sobre los receptores glutamatérgicos fue necesario utilizar la técnica de expresión de receptores recombinantes en ovocitos de rana *Xenopus laevis*, la cual consiste en inyectar mRNA o cDNA en los ovocitos, 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 el caso de los receptores glutamatérgicos se estudiaron los efectos de diferentes disolventes sobre los subtipos de receptores NMDA (NR1/2B, NR1/2A y NR1/2C) y no- NMDA (GluR1, GluR1/GluR2, y GluR6). Todos los alquilbencenos probados (benceno, tolueno, m-xileno, etilbenceno y propilbenceno) y un compuesto halogenado, el 1,1,1- tricloroetano (TCE) fueron capaces de inhibir las corrientes iónicas inducidas por la activación de los receptores glutamatérgicos de manera dependiente de la dosis. El receptor NMDA del subtipo NR1/2B fue aproximadamente 10 veces más sensible a los efectos inhibitorios de los disolventes que el subtipo NR1/2A (y en el caso de tolueno, también para el subtipo NR1/2C). Después de hacer los ajustes necesarios para corregir los resultados por evaporación de los disolventes en las soluciones de registro, se obtuvieron las siguientes concentraciones inhibitorias al 50% (CI₅₀), para la inhibición de los receptores NR1/2B: benceno, 0.23mM; tolueno, 0.17mM; m- xileno, 0.21mM; etilbenceno 0.17mM; propilbenceno 0.35mM y TCE 0.18mM. Es importante señalar que la inhibición sobre los receptores NMDA observada con los disolventes de abuso se produjo en concentraciones que no alteraron significativamente la conductancia de la membrana en reposo en ovocitos. (Cruz, et al. 2000).

EFFECTOS SOBRE RECEPTORES GABA_A Y GLICINA

En 2000, Beckstead y colaboradores evaluaron la participación de los receptores GABA_A y glicina como posibles blancos moleculares de los disolventes de abuso. Tras estudiar unas rebanadas de hipocampo y la expresión de receptores recombinantes en ovocitos, estos autores encontraron que el tolueno, el tricloroetileno y TCE aumentaban en forma reversible las corrientes inhibitorias mediadas por el receptor GABA_A en concentraciones de ~0.2-0.9mM.

En este estudio se analizaron los efectos sobre los receptores GABA_A subtipo $\alpha_1\beta_1$ y sobre el receptor homomérico a glicina α_1 . En ausencia del agonista específico de cada receptor, los disolventes no tuvieron efecto sobre los receptores, lo cual implica que no actúan como agonistas directos sino como moduladores alostéricos del receptor (Beckstead, et al. 2000).

EFFECTOS SOBRE LOS RECEPTORES COLINÉRGICOS

Los receptores colinérgicos se dividen en dos grandes tipos: los nicotínicos y los muscarínicos, a su vez, cada uno de ellos cuenta con varios subtipos. Los nicotínicos son receptores acoplados a canales iónicos que al activarse permiten la entrada de Na^+ y Ca^{2+} a la célula, mientras que los muscarínicos son receptores acoplados a proteínas G. Estudios recientes han demostrado que el tolueno produce una inhibición reversible de las corrientes inducidas por acetilcolina en ovocitos de rana que expresan diversos tipos de receptores colinérgicos nicotínicos, siendo el orden de sensibilidad expresado en CI_{50} : $\alpha_4\beta_2$ (0.2mM) > $\alpha_3\beta_2$ (0.4mM) > $\alpha_3\beta_4$ (1.1mM) > α_7 (1.2mM) > $\alpha_4\beta_4$ (1.8mM). Al igual que lo encontrado en ovocitos, en las neuronas hipocámpales en cultivo, el tolueno inhibió las respuestas mediadas por la acetilcolina de forma dependiente de la dosis y con una CI_{50} de 1.1mM. (Bale, et al. 2002). Los efectos del tolueno sobre los receptores colinérgicos muscarínicos se han estudiado en células precursoras neuronales en proliferación y se ha encontrado que deprimen las respuestas de Ca^{2+} a acetilcolina con una CI_{50} de 0.5mM. Estos estudios confirman que, al igual que el etanol, el tolueno es un antagonista de los receptores colinérgicos nicotínicos y muscarínicos si bien con diferencias importantes en potencia. (Ma et al., 2002)

EFFECTOS SOBRE RECEPTORES SEROTONÉRGICOS DEL TIPO 5-HT₃

En 2003, Lopreato y colaboradores estudiaron el efecto del tolueno, del tricloroetileno y del TCE sobre los receptores 5-HT₃ expresados en ovocitos de rana y encontraron que los tres compuestos aumentan las corrientes activadas por la serotonina de manera reversible y dependiente de la dosis en concentraciones menores a 1mM. (Lopreato, et al. 2003). Estos hallazgos son interesantes por que el antagonismo de los receptores 5-HT₃ se ha propuesto como una estrategia terapéutica promisorio para el tratamiento del alcoholismo (Johnson y Ait-Daoud., 2000) y al menos teóricamente, podría serlo para el abuso de inhalables.

EFFECTOS SOBRE CANALES IÓNICOS ACTIVADOS POR VOLTAJE

Recientemente se ha estudiado los efectos del tolueno sobre los canales de sodio cardiacos expresados en ovocitos, y han encontrado que tiene efecto inhibitorio dependiente de la dosis y de la frecuencia de uso del canal, pero independiente del voltaje. (Gauthereau et al., 2003).

EFFECTOS DE LOS DISOLVENTES SOBRE EL SISTEMA DOPAMINÉRGICO

El sistema neuronal implícito en conductas placenteras es el sistema mesolímbico dopaminérgico y se denomina así al circuito formado por una red neuronal que involucra varios núcleos cerebrales entre los que destacan el área ventral tegmental (AVT), el núcleo *accumbens* y la corteza prefrontal. Como su nombre lo indica, el sistema mesolímbico dopaminérgico actúa produciendo un aumento en la liberación de dopamina. La mayoría de las drogas de abuso (si no es que todas) activan este sistema, lo cual lleva a una alteración de la conducta que se manifiesta en un deseo compulsivo de búsqueda e ingestión de la sustancia. (Abbott, 1992). Mediante la técnica de microdiálisis, se ha encontrado que, al igual que con los reforzantes naturales, la administración de opioides, cocaína, anfetaminas, nicotina, cannabinoides y etanol produce un aumento en los niveles de extracelulares de dopamina en el núcleo *accumbens*. (Nestler et al., 2001). Más tarde, también se evaluaron los efectos de los disolventes sobre la liberación de dopamina y se obtuvieron resultados interesantes. De acuerdo con estudios hechos por Rea (Rea et al., 1984), la inhalación de 1000 ppm de tolueno durante 8 horas aumenta el contenido de dopamina en el tejido estriatal de ratas. Lo mismo sucede cuando los animales se exponen a 1000 y 2000 ppm de tolueno durante 2 horas (Stengard et al., 1994). De manera interesante, si se administra tolueno con cocaína, aumentan significativamente los niveles de dopamina en este núcleo, con un incremento mayor que la suma de los componentes individuales. Esto sugiere que puede haber una potenciación de los efectos de los disolventes cuando se combinan con otras drogas de abuso (Gerasimov et al., 2002).

Aunque aún no se conocen los mecanismos que intervienen en el aumento en la liberación de dopamina tras la exposición a disolventes, se ha sugerido que éste se puede asociar con una acción directa del tolueno sobre las neuronas dopaminérgicas, (Riegel y Friench, 1999) con su acción indirecta mediante la inhibición de receptores NMDA, (Cruz, et al. 2000) o con la potenciación sobre los receptores GABA_A (Beckstead et al., 2000) y/o 5-HT₃ (Lopreato et al., 2003).

EFFECTOS DE LOS DISOLVENTES SOBRE LA FORMACIÓN DE RADICALES LIBRES

De acuerdo con algunos investigadores, la formación de especies reactivas de oxígeno podría ser parte de los mecanismos de acción responsables de los efectos crónicos de algunos disolventes, como la producción de daño cerebral y hepático. Se sabe que varios hidrocarburos alifáticos y alicíclicos incrementan la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) en células granulares cerebrales de rata. (Dreiem et al., 2002). El benceno y el tolueno no tienen efecto en esta preparación, mientras que el xileno aumenta la formación de ROS pero sólo en altas concentraciones. (Myhre y Fonnum. 2001)

III.1.4. BENCENO

A principios del siglo XIX se aisló una clase de compuestos orgánicos a partir de sustancias aromáticas como aceites de girasol, vainilla, canela, almendras amargas y benjuí. Estos compuestos eran sustancias de olor muy agradable por lo que se les dio el nombre de *aromáticos* para indicar su aroma. De hecho muchos de estos compuestos “aromáticos” se emplean aún en perfumería y la industria de extractos odoríferos por sus olores distintivos y agradables.

Dentro de los compuestos aromáticos se encuentra el benceno y los compuestos de comportamiento químico similar. Las propiedades aromáticas (fragantes) son las que distinguen al benceno de los hidrocarburos alifáticos (grasos). (Burton y Routh. 1977).

El benceno fue aislado por primera vez por Michael Faraday en 1825, antes de que hubiera teorías apropiadas sobre los mecanismos por los que se unen los átomos en las moléculas. Los precursores de la teoría estructural de la química orgánica son Kekulé, Couper, Butlerov y Crum Brown y su trabajo tenía de 30 a 35 años de adelanto a su tiempo. Ellos nos dieron los símbolos que utilizamos actualmente y a los que llamamos estructuras de Lewis, debido a que fue Lewis quien identificó las líneas rectas en las fórmulas estructurales, con pares compartidos de electrones. No obstante el benceno fue un problema para la teoría estructural hasta 1931. (Holum, 1990).

Más tarde, se comprobó que el benceno era un constituyente del alquitrán. El alquitrán es un líquido oscuro, pesado, obtenido por destilación destructiva del carbón a temperaturas elevadas. El alquitrán de carbón ha sido la fuente principal de compuestos aromáticos, aunque en la actualidad algunos ya se obtienen de la industria del petróleo (Conn y Stumpf., 1991).

La molécula bencénica es un anillo de un tipo muy especial. Hay ciertos compuestos –también anulares– que parecen diferir estructuralmente del benceno y sin embargo se comportan de forma similar. Resulta que estos otros compuestos se parecen estructuralmente al benceno –en su estructura electrónica básica–, por lo que también son aromáticos. Además, los hidrocarburos aromáticos se caracterizan por su tendencia a la sustitución heterolítica. Estas mismas reacciones de sustitución son características de anillos aromáticos donde quieran que aparezcan, independientemente de los otros grupos funcionales que la molécula pudiera contener. Estos últimos afectan a la reactividad de los anillos aromáticos y viceversa (Conn y Stumpf., 1991).

Estructura del benceno

Por la definición de los compuestos aromáticos es evidente que todo estudio de su química debe comenzar con el análisis del benceno. El benceno se conoce desde 1825 y sus propiedades químicas y físicas son mejor conocidas que las de ningún otro compuesto orgánico. A pesar de ello, hasta 1931 no se había logrado proponer una estructura satisfactoria para esta sustancia y tuvieron que pasar de 10 a 15 años para que fuera de uso general entre los químicos orgánicos. La dificultad no residía en la complejidad de la molécula sino más bien en las limitaciones en el desarrollo que había alcanzado por entonces la teoría estructural (Morrison y Boyd., 1998).

El benceno tiene la formula molecular C_6H_6 . Por su composición elemental y peso molecular, se sabía que el benceno tiene seis carbonos y seis átomos de hidrogeno, (Figura 1) (Burton y Routh, 1977; Morrison y Boyd.1998).

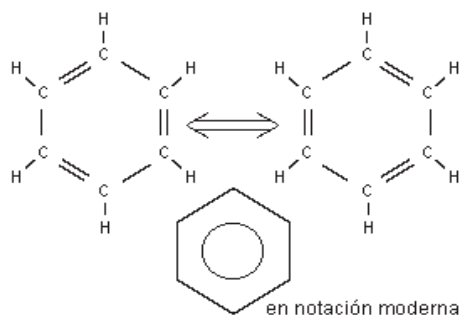


Figura 1. Estructura del benceno (Tomada de Morrison y Boyd, 1998).

Tabla II. PROPIEDADES FÍSICAS DEL BENCENO

Estado de Agregación	Líquido
Apariencia	Incoloro
Olor	Característico
Punto de ebullición	80° C
Punto de fusión	+6° C
Densidad	878,6 kg/m ³ , 0.8786 g/cm ³
Masa	78.1121uma
Viscosidad	0.652

(Tomada de Burton y Routh, 1977; Holum, 1990).

El benceno, es un líquido incoloro de olor dulce, se evapora al aire rápidamente, es sólo ligeramente soluble en agua y es sumamente inflamable (tabla I). La mayoría de la gente puede empezar a detectar el olor del benceno en el aire cuando está en concentraciones de 60 partes por millón (ppm) y a reconocerlo como benceno cuando la concentración alcanza 100 ppm. La mayoría de la gente empieza a detectar el sabor del benceno cuando está en concentraciones entre 0.5 y 4.5 ppm en el agua. Una parte por millón equivale aproximadamente a una gota en 40 galones. (Burton y Routh, 1977; Holum, 1990).

Hay muchos factores que determinan si la exposición al benceno perjudica de manera importante la salud. Estos factores incluyen la dosis (la cantidad), la duración (por cuánto tiempo) y la manera como se entra en contacto con esta sustancia. También se deben considerar las otras sustancias químicas a las que se está expuesto, edad, sexo, dieta, características personales, estilo de vida y condición de salud (www.estrucplan.com.ar).

El benceno se encuentra en el aire en el agua y en el suelo y proviene tanto de fuentes industriales como naturales. Hoy en día, la mayoría del benceno se produce a partir del petróleo. Debido a su extenso uso, el benceno es uno de los 20 compuestos químicos más producidos en Estados Unidos en términos de volumen. Varias industrias usan benceno para fabricar otros productos químicos, como por ejemplo: el estireno (en Styrofoam® y otros plásticos), cumeno (en varias resinas) y ciclohexano (en nylon y fibras sintéticas). El benceno también se usa en la manufactura de ciertos tipos de caucho, lubricantes, tinturas, detergentes, medicamentos y plaguicidas (www.estrucplan.com.ar).

Las fuentes naturales de benceno, entre las que se incluyen las emisiones volcánicas y los incendios forestales, también contribuyen a la presencia de benceno en el medio ambiente. También se encuentra en el petróleo y la gasolina y en el humo de cigarrillos. El benceno se encuentra comúnmente en el ambiente. Las principales fuentes en el ambiente son los procesos industriales. Las descargas industriales, la disposición de productos que contienen benceno y las fugas de gasolina desde tanques subterráneos liberan benceno al agua y al suelo (www.estrucplan.com.ar).

El benceno puede pasar al aire desde la superficie del agua y del suelo. Una vez en el aire, reacciona con otras sustancias químicas y se degrada en unos días. El benceno en el aire puede ser arrastrado al suelo por la lluvia o la nieve. El benceno se degrada más lentamente en el agua y el suelo, es poco soluble en agua y puede pasar a través del suelo hacia el agua subterránea, no se acumula en plantas ni en animales (www.estrucplan.com.ar).

Todo el mundo está expuesto diariamente a cantidades pequeñas de benceno. Nosotros estamos expuestos al benceno al aire libre, en el trabajo y en el hogar. La exposición de la población general ocurre principalmente a través de la inhalación de aire que contiene benceno. Las principales fuentes de exposición son el humo de tabaco, las estaciones de servicio, los gases del tubo de escape de automóviles y las emisiones industriales, siendo responsables de aproximadamente 20% de la exposición total de la población. Los vapores (o gases) de productos que contienen benceno, por ejemplo pegamentos, pinturas, cera para muebles y detergentes también pueden ser fuentes de exposición al benceno (www.estrucplan.com.ar).

Aproximadamente la mitad de la exposición al benceno es el resultado de fumar cigarrillos o de exposición al humo de tabaco. Un fumador típico (32 cigarrillos al día) recibe aproximadamente 1.8 miligramos (mg) de benceno al día. Esta cantidad es aproximadamente 10 veces mayor que la cantidad de benceno que recibe una persona que no fuma. Los niveles de benceno en el ambiente oscilan entre 0.02 y 34 partes de benceno por billón de partes de aire (ppb) (1 ppb es la milésima parte de 1 ppm). Las personas que viven en zonas urbanas o en áreas industriales generalmente están expuestas a niveles de benceno más altos que las que viven en áreas rurales. Los niveles de benceno en el hogar generalmente son más altos que al aire libre. La gente que vive cerca de sitios de desechos peligrosos, refinerías de petróleo, industrias petroquímicas o estaciones de servicio puede estar expuesta a niveles más altos de benceno (www.estrucplan.com.ar).

Para la mayoría de la gente, la exposición al benceno a través de alimentos, bebidas o agua es menor que la exposición a través del aire. El agua potable contiene típicamente menos de 0.1 ppb. Se ha detectado benceno en algunos alimentos, bebidas alcohólicas y agua embotellada. La fuga de gasolina desde tanques subterráneos o desde vertederos o sitios de desechos peligrosos que contienen benceno puede contaminar el agua de manantiales. La gente que tiene agua de grifo contaminada con benceno puede exponerse al beber el agua o al ingerir alimentos preparados con el agua contaminada. Además, también puede ocurrir exposición al inhalar benceno al ducharse, al bañarse en tina o al cocinar con agua contaminada (www.estrucplan.com.ar).

Las personas que trabajan en industrias que manufacturan o usan benceno pueden estar expuestas a los niveles más altos. Estas ocupaciones incluyen: manufactura de benceno (petroquímica, refinerías de petróleo y manufactura de carbón de hulla y coque), manufactura de neumáticos y almacenaje y transporte de benceno y de productos de petróleo que contienen benceno. Otras personas que pueden estar expuestas al benceno en el trabajo son los trabajadores en hornos de coque en la industria del acero, en la imprenta, industria de caucho, fabricantes de calzado, tecnólogos de laboratorios, bomberos, talleres mecánicos, fumadores, empleados de estaciones de servicio, etc. (www.estrucplan.com.ar).

Metabolismo del benceno

El benceno puede entrar a nuestro cuerpo a través de los pulmones, el tubo digestivo y la piel. Cuando estamos expuestos a niveles altos de benceno en el aire, aproximadamente la mitad del benceno que inhalamos pasa a la corriente sanguínea a través de los pulmones. Cuando nos exponemos al benceno en alimentos o bebidas, la mayor parte del benceno que ingerimos pasa a la corriente sanguínea a través del tubo digestivo. Si la piel entra en contacto con benceno o con productos que contienen benceno, una pequeña cantidad de benceno pasará a la sangre a través de la piel. Una vez en la sangre, el benceno se moviliza a través del cuerpo y puede ser almacenado transitoriamente en la médula ósea y el tejido graso (www.estrucplan.com.ar).

El benceno es convertido a metabolitos en el hígado y la médula ósea. Algunos de los efectos adversos de la exposición al benceno son causados por estos metabolitos. La mayoría de los metabolitos del benceno abandonan el cuerpo en la orina dentro de 48 horas después de la exposición. Después de su absorción, el benceno es eliminado inalterado en la orina (menos del 1%) y en el aire expirado (10 a 50% según la actividad física y la cantidad del tejido adiposo); el resto es biotransformado. La mayor parte del benceno absorbido es metabolizado, básicamente en el hígado y la médula ósea, por oxidación a fenol, quinol y catecol, que se excretan en la orina en forma de sulfatos y glucuronatos. Otros metabolitos, producidos son el ácido S-fenilmercaptúrico y los ácidos transtrans- mucónicos (Figura 2). (www.estrucplan.com.ar)

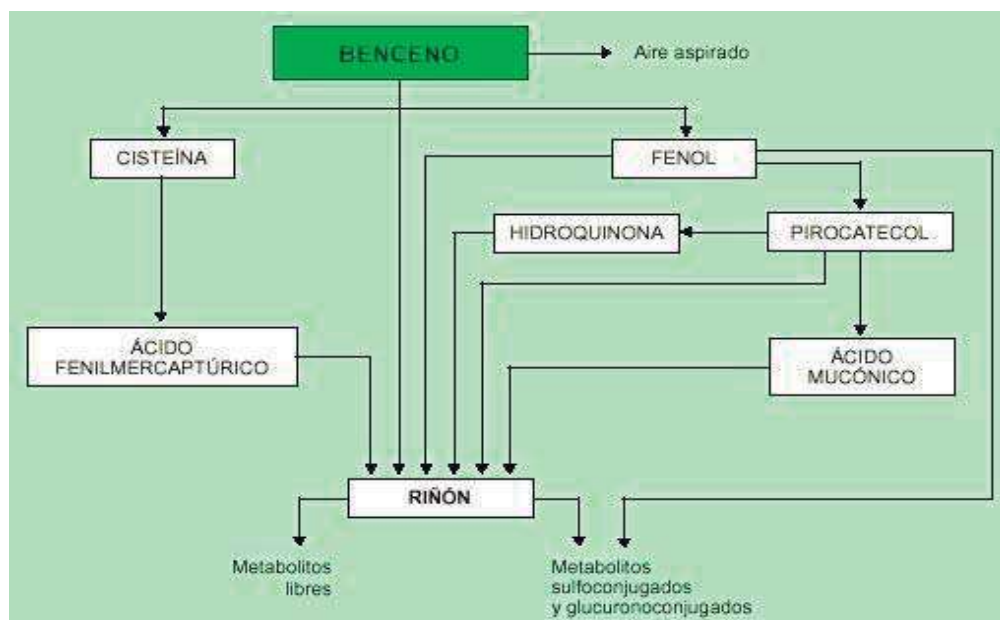


Figura 2. Metabolismo del Benceno. (Tomada de [www.estrucplan.com.ar] Centro Nacional de Condiciones de Trabajo)

La excreción de los metabolitos se completa generalmente dentro de las 24-48 horas después de una exposición única, lo que representa una vida media biológica inferior a las 12 horas. Sin embargo, los tejidos adiposos pueden retener una pequeña cantidad de benceno durante varios días después del final de la exposición. (www.estrucplan.com.ar)

Alteraciones a la salud

La exposición breve (5 a 10 minutos) a niveles muy altos de benceno en el aire (10,000 a 20,000 ppm) puede producir la muerte. Niveles más bajos (700 a 3,000 ppm) pueden producir letargo, mareo, aceleración del latido del corazón, dolor de cabeza, temblores, confusión y pérdida del conocimiento. En la mayoría de los casos, los efectos desaparecen cuando la exposición termina y la persona empieza a respirar aire fresco. (www.estrucplan.com.ar)

La ingestión de alimentos o bebidas que contienen niveles altos de benceno puede producir vómitos, irritación del estómago, mareo, somnolencia, convulsiones, aceleración del latido del corazón, coma y muerte. Los efectos del consumo de alimentos o líquidos que contienen niveles bajos de benceno no se conocen. Si se derrama benceno sobre la piel, se puede sufrir enrojecimiento y ulceración. El contacto de benceno con los ojos puede causar irritación y daño de la córnea. (www.estrucplan.com.ar)

El benceno produce alteraciones en la sangre. La gente que respira benceno durante períodos prolongados puede sufrir daño de los tejidos que producen las células sanguíneas, especialmente la médula ósea. Estos efectos pueden interrumpir la producción de células sanguíneas y producir una disminución de algunos componentes importantes de la sangre. Una disminución de los glóbulos rojos puede conducir a anemia. La reducción de otros componentes de la sangre puede causar hemorragias. La producción de células sanguíneas puede normalizarse después de que termina la exposición al benceno. La exposición excesiva al benceno puede ser perjudicial para el sistema inmunológico, aumentando las probabilidades de contraer infecciones y posiblemente disminuyendo las defensas del cuerpo contra el cáncer (www.estrucplan.com.ar).

La exposición prolongada al benceno puede producir cáncer en los órganos que producen los elementos de la sangre. Esta condición se llama leucemia. La exposición al benceno se ha asociado con el desarrollo de un tipo especial de leucemia llamada leucemia mieloide aguda. El Departamento de Salud y Servicios Humanos (*DHHS*) ha determinado que el benceno es un carcinógeno (puede producir cáncer) reconocido (www.estrucplan.com.ar).

Además tanto la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (*IARC*) como la *EPA* han determinado que el benceno es carcinogénico en seres humanos. (www.astdr.cdc.gov, Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades)

La exposición al benceno puede ser perjudicial para los órganos sexuales. Algunas mujeres que inhalaban altos niveles de benceno en el trabajo durante meses sufrieron ciclos menstruales irregulares. Cuando fueron examinadas, se observó que estas mujeres sufrieron una disminución del tamaño de los ovarios. Sin embargo, los niveles de exposición no se conocieron y los estudios de estas mujeres no demostraron que el benceno causó los efectos. No se sabe que efectos podría tener el benceno sobre el feto o sobre la fertilidad en hombres (www.estrucplan.com.ar).

Los estudios en animales preñados han demostrado que inhalar benceno afecta adversamente al feto. Estos efectos incluyen bajo peso al nacer, retardo en la formación de los huesos y daño de la médula ósea. Los niños pueden ser afectados por la exposición al benceno de la misma manera que los adultos. El benceno puede pasar de la sangre de la madre al feto. No se sabe si los niños son más susceptibles a la exposición que los adultos. (www.estrucplan.com.ar)

Exámenes para determinar exposición al benceno

Hay varias pruebas que pueden determinar si se ha estado expuesto al benceno. Todas estas pruebas tienen limitaciones en cuanto a lo que pueden revelar. La prueba para medir benceno en el aliento debe llevarse a cabo poco tiempo después de la exposición. Esta prueba no es muy útil para detectar niveles de benceno muy bajos en el cuerpo. El benceno se puede medir en la sangre; sin embargo, como el benceno desaparece rápidamente de la sangre, la prueba puede ser útil solamente para detectar exposiciones recientes. Algunos metabolitos del benceno, por ejemplo el fenol, el ácido mucónico y el ácido S-fenilmercaptúrico pueden medirse en la orina. La cantidad de fenol en la orina se ha usado para evaluar exposición a benceno en trabajadores. (www.estrucplan.com.ar).

La prueba es útil solamente cuando estamos expuestos a niveles de 10 ppm o más de benceno en el aire. Sin embargo, esta prueba también debe llevarse a cabo poco tiempo después de la exposición y no puede usarse para determinar con certeza a cuanto benceno se expuso porque el fenol puede provenir de otras fuentes (la dieta o el ambiente). Las pruebas de ácido mucónico o de ácido S-fenilmercaptúrico son más sensibles e indican con mayor certeza la exposición al benceno. La medición de benceno en la sangre o de metabolitos en la orina no pueden usarse para pronosticar si ocurrirán efectos adversos. El conteo de todos los tipos de células de la sangre y el examen de la médula ósea se usan para determinar la exposición al benceno y sus efectos sobre la salud. (www.estrucplan.com.ar)

Para personas expuestas a cantidades de benceno relativamente altas, se pueden realizar análisis completos de sangre para evaluar posibles alteraciones asociadas con la exposición. Sin embargo, los análisis de sangre no son útiles cuando los niveles de exposición son bajos (Tabla II [www.estrucplan.com.ar] Centro Nacional de Condiciones de Trabajo).

Tabla III. ANÁLISIS CLÍNICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE BENCENO (Tomada de www.estrucplan.com.ar. Centro Nacional de Condiciones de Trabajo).

Examen periódico. Detección de los efectos tóxicos. (Vigilancia médica).	Examen periódico (Vigilancia biológica)
REALIZAR: SEMESTRALMENTE: HEMOGRAMA RECuento DE PLAQUETAS ANUALMENTE: EXAMEN CLÍNICO con orientación: a)Dermatológica b)Hematológica c)Oftalmológica d)Otorrinolaringológica e)Neumonológica f) Neurológica	SEMESTRALMENTE: ACIDO t, t-MUCÓNICO EN ORINA Indice Biológico de Exposición: 500 mcg/g de creatinina. ACIDO S-FENILMERCAPTÚRICO EN ORINA Indice Biológico de Exposición: 25 mcg/g de creatinina. FENOL EN ORINA: Aunque no es un parámetro sensible, se puede utilizar como alternativa.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los exámenes el tratamiento se realizara en función al criterio médico.

Existen varios procedimientos para la toma de muestras y análisis de benceno en aire. Su captación puede llevarse a cabo mediante toma de muestra dinámica (tubo de carbón activo y bomba de aspiración) o bien utilizando muestreadores pasivos. El análisis se realiza en ambos casos por cromatografía de gases con detectores. (www.astdr.cdc.gov (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades), www.estrucplan.com.ar, (Centro Nacional de Condiciones de Trabajo) y www.textoscientificos.com).

III.2 SISTEMA GUSTATIVO

III.2.1 SISTEMAS Y MODALIDADES SENSORIALES

El proceso de recepción sensorial se inicia en los órganos de los sentidos, lo que permite a los organismos reaccionar ante cambios en el ambiente que los rodea. La información obtenida es valiosa para satisfacer sus necesidades alimentarias, en la detección de algún peligro, en la conservación de sus constantes vitales, con fines reproductivos, entre otros.

Por ende, los distintos sistemas sensoriales (o sentidos) necesitan a su vez de diversos receptores para lograr su fin. Los receptores sensoriales pueden ser parte de una neurona o una célula de origen nervioso, cuya excitabilidad es específica para una determinada forma de energía proveniente del medio ambiente. Se asocian por lo general a una fibra nerviosa aferente que transmite potenciales de acción a las neuronas localizadas en el SNC. Los receptores sensoriales traducen la energía en códigos neurales y la duración de los mismos se codifica como patrones de descarga rápida o lenta (adaptación). (Meza Ruiz., 1995)

Para captar, modificar y transmitir la información del medio interno o externo hacia el SNC existen órganos, vías y centros nerviosos especializados que integran a los diversos sistemas sensoriales. En ellos se identifican características comunes como son: los campos receptivos del SNC, tanto en receptores como de las neuronas sensoriales, la información sensorial se procesa en el tálamo y la corteza cerebral, por lo que su organización es jerárquica, en paralelo y topográfica. En los receptores sensoriales se identifican cuatro atributos: 1) modalidad, 2) intensidad, 3) duración y 4) localización, que se encuentran combinados con la sensación.

1) MODALIDAD: Las diversas formas de energía son transformadas en el sistema nervioso como sensaciones diferentes. Se reconocen 5 modalidades; vista, oído, tacto, gusto y olfato. Cada una de ellas tiene submodalidades, así por ejemplo el gusto puede ser dulce, ácido, salado, amargo, y umami. En 1826, Müller (Müller 1826) propuso la Ley de la energía sensorial específica como la propiedad de las fibras nerviosas que integran en el SNC el tipo de sensación específica. Para que esto suceda como lo propone Sherrington (1906), el tipo de receptor deberá recibir un estímulo “adecuado”. La Ley de Müller de la energía nerviosa específica, es el mecanismo neural que codifica tanto la modalidad del estímulo como sus cualidades constitutivas.

Tabla IV.- PRINCIPALES MODALIDADES SENSORIALES

Modalidad sensorial	Receptor	Ubicación
Audición	Células pilosas	Oído (órgano de Corti)
Visión	Conos y bastones	Ojo (retina)
Olfato	Neuronas olfativas	Nariz (Mucosa olfativa)
Gusto	Células receptoras gustativas	Lengua (botones gustativos)
Tacto (presión, calor, frío, dolor*)	Terminaciones nerviosas	Diversa
	*Terminaciones nerviosas libres	Diversa

(Modificada de Meza et al., 1995)

2) INTENSIDAD: Es el grado de sensibilidad dependiente del estímulo. La intensidad más baja percibida por un individuo es el estímulo umbral, el cual es determinado de manera estadística, por lo que puede aumentar o disminuir debido a la fatiga, a la práctica o a la forma en como se presente el estímulo. Esta variación puede ser considerada tomando en cuenta dos aspectos en la sensación: la detectabilidad absoluta, que es la medida de capacidad del sistema sensorial que precede al estímulo y el criterio del individuo para valorar al estímulo que depende de la experiencia. Tomando ambos por separado, se tiene el concepto de umbral para explicar los mecanismos de la acción de las drogas. Por ejemplo, la morfina es un potente analgésico que eleva el umbral del dolor, por que reduce la detectabilidad, así como el criterio para discriminar si el estímulo es doloroso o no. Sin embargo, la marihuana, aunque incrementa el umbral al dolor, no se relaciona con el criterio de discriminación (Meza Ruiz, 1995).

3) DURACIÓN: Es la relación entre la intensidad del estímulo y la percepción del mismo. De manera típica, cuando un estímulo permanece por largo tiempo, la intensidad disminuye; a esta disminución se le reconoce como “adaptación”. El grado en el cual un receptor llega a adaptarse, depende del tipo de órgano sensitivo, por ejemplo, el tacto se adapta rápidamente (por lo que sus receptores se denominan fásicos), en tanto la presión sostenida en un corpúsculo de Pacini produce un potencial generador que dura muy poco, no así los receptores localizados en la carótida (presorreceptores) o en los husos musculares, los cuales se adaptan poco (receptores tónicos); esta característica permite mantener la regulación constante en la presión arterial o en el tono muscular respectivamente. (Meza Ruiz, 1995)

4) LOCALIZACIÓN: Depende de la habilidad para ubicar al sitio de origen del estímulo y para distinguir qué tan cercano se encuentra. Weber (1846) denominó el umbral entre dos estímulos como la detección de la distancia mínima que los separa. Este umbral es pequeño en la punta de los dedos y se incrementa en las partes más proximales del cuero cabelludo. Dudel y colaboradores (Dudel, 1987) encontraron que la densidad de innervación de los receptores de los dedos es 4 veces mayor a la presente en la palma de las manos.

III.2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS RECEPTORES SENSORIALES

a) Por el sitio de origen del estímulo

Se les subdivide en: exteroceptores, localizados superficialmente en el organismo para recibir las señales externas que, a su vez, se subdividen en: teleceptores, como el oído (Figura 3), ojo y nariz, en los que las células receptoras registran estímulos a distancia, a diferencia de los de contacto, que requieren de la aplicación directa del estímulo sobre el receptor, provocando sensaciones en el mismo (tacto, gusto, dolor, temperatura). Por el contrario, los receptores localizados en el interior del cuerpo, reciben señales de los cambios internos viscerales y son los llamados interoreceptores. La tercera categoría corresponde a los propioceptores, que registran los cambios ocurridos en el mismo organismo (estiramiento, movimiento, aceleración y peso). (Meza Ruiz 1995)

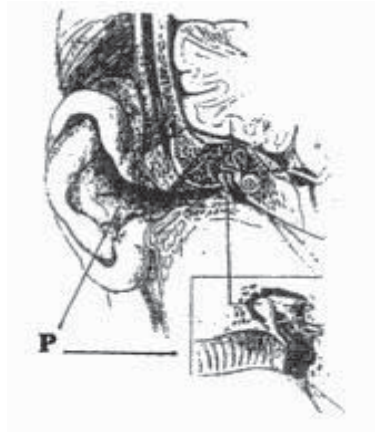


Figura. 3. Teleceptores. El pararreceptor, oreja (P), con los elementos del oído externo y medio, según Bloom y Iazerson, 1988. (Tomada de Meza, 1995)

b) Por el tipo de energía recibida

1) **Mecanorreceptores:** Formados por un gran grupo de receptores que responden a cambios de distorsión o presión sobre la membrana celular, al mismo tiempo pueden incluir a los anteriores (extero, intero y propioceptores). La información que registran es táctil, dolorosa, grado de distensión vesical, de sonidos, de equilibrio o bien de folículos pilosos. (Mesa Ruiz 1995)

2) **Quimiorreceptores:** Responden a la concentración de sustancias químicas, al pH de los líquidos intersticiales alrededor del receptor o a los cambios de presión osmótica (osmorreceptores hipotalámicos). (Figura. 4), (Mesa Ruiz 1995)

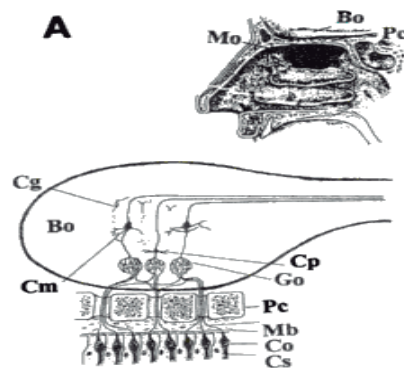


Figura 4. Quimiorreceptores. La cavidad nasal del hombre con la mucosa olfatoria (Mo) y el bulbo olfatorio (Bo) en donde se localizan las células olfatorias (Co), las de soporte (Cs), la membrana basal (Mb) la placa cribosa (Pc), los glomérulos olfatorios (Go), las células en penacho (Cp), las mitrales (Cm) y las granulares (Cg). (Tomada de Meza Ruiz G. 1995)

3) **Fotorreceptores:** Localizados en la retina y que son sensibles a intensidades (bastones) o a longitudes de onda de la luz (conos). (Mesa Ruiz 1995)

4) **Termorreceptores:** Localizados en la piel o en el hipotálamo, responden a cambios de temperatura. Sin embargo, se desconocen los mecanismos por los que los cambios de temperatura alteran las señales del receptor. Tanto en la piel como en la superficie superior de la lengua de los mamíferos existen 2 tipos de receptores de temperatura, los que aumentan su descarga al ser calentados, y los que la incrementan al ser enfriados (con relación a los 37° C). (Mesa Ruiz 1995)

5) **Electrorreceptores:** Registran cambios en el campo eléctrico, se localizan en algunos peces, insectos y aves; sin embargo, en ellos no se han encontrado células sensoriales especializadas. Además existe otro tipo de receptores que son capaces de registrar radiaciones ultravioleta, de ultrasonido y magnetismo. (Mesa Ruiz 1995)

c) Por su origen embrionario

Los receptores pueden ser somáticos y viscerales, localizados en la somatopleura y visceropleura, respectivamente; por ejemplo, se les encuentra ya sea en la piel o en el músculo en el tracto alimentario. (Meza Ruiz, 1995)

III.2.3. BASES ANATÓMICAS DEL GUSTO

El sentido del gusto, junto con otros sentidos y sistemas, nos informa de si existe la necesidad de ingerir un determinado alimento, de las posibles consecuencias placenteras de esta ingesta y del momento en que estamos saciados e implica regiones anatómicas (Figura 5) que van desde la cavidad nasal, el paladar, la lengua, faringe, y la epiglotis. (Mas et al. 2007).

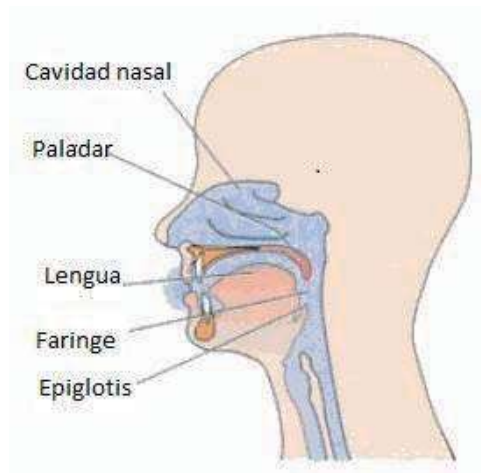


Figura 5. Anatomía de las regiones implicadas en el sentido del gusto (Tomada de Mas et al., 2007).

El sentido del gusto no sólo trabaja por lo que respecta al procesamiento de la información gustativa. Órganos receptores somatosensoriales de la boca (Figura 6), por ejemplo, captan la información relativa a la temperatura y textura de los alimentos. Asimismo, la vista, el olfato y el gusto se combinan para dar lugar a la percepción del sabor del alimento. (Mas et al., 2007).

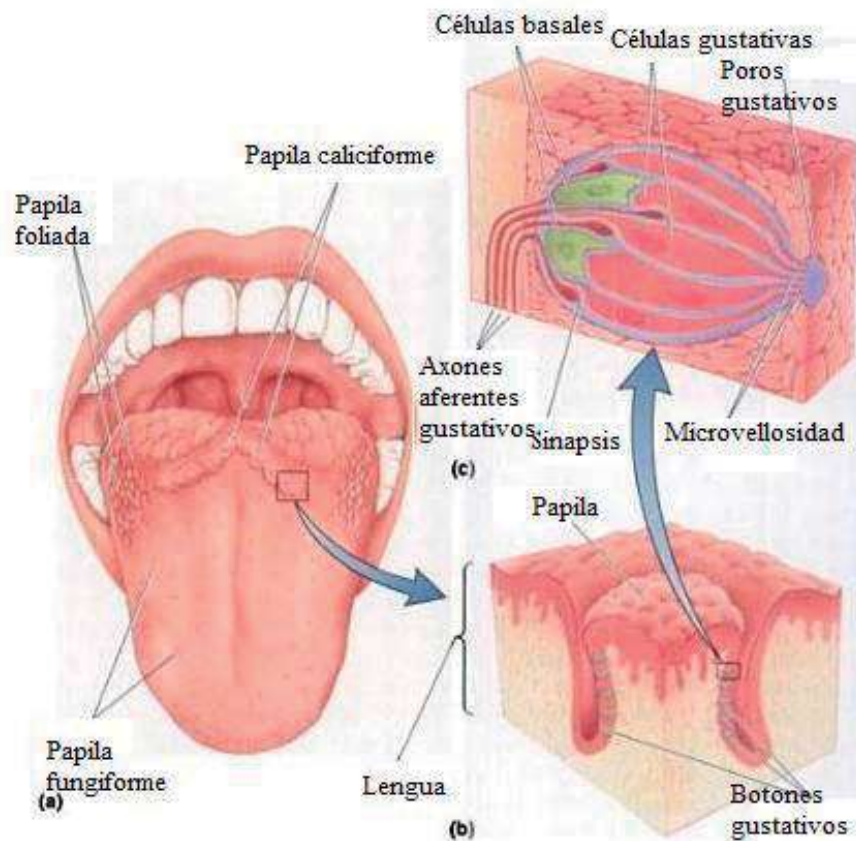


Figura 6. Órganos receptores del gusto. (Tomada de Soriano Mas., 2007)

El órgano especializado del gusto es el corpúsculo gustativo (Figura 7), un agregado de 50 a 150 células quimiosensibles ubicadas en el epitelio lingual. Una apertura en la superficie del epitelio, el poro gustativo, permite el acceso directo de los estímulos a las membranas apicales de las células gustativas. (Elliot y Simon, 1990)

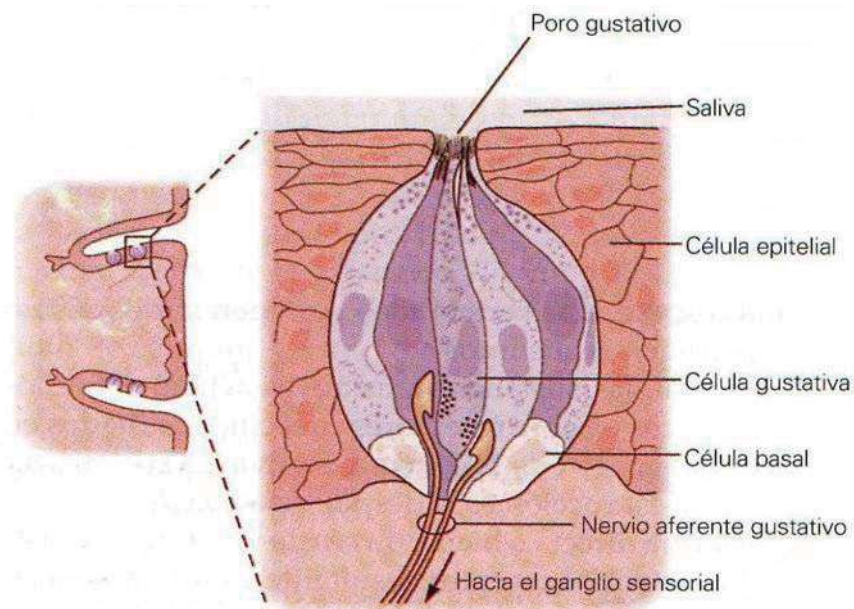


Figura 7. Representación grafica de un botón gustativo con sus diferentes componentes (Tomada de www.arsxxi.com)

Hay uniones estrechas entre las células gustativas que restringen el acceso de la mayoría de los estímulos gustativos a las microvellosidades apicales, aunque éstas parecen ser permeables a iones y a otras moléculas de bajo peso molecular (Elliot y Simon, 1990; Ye et al., 1991). En los vertebrados acuáticos, el poro gustativo tiene un diámetro de 20 a 50 μm , mientras que en los mamíferos, el poro gustativo posee un diámetro menor que va de 2 a 10 μm y los ápices de las células gustativas están alejados del borde del botón. Los nervios gustativos aferentes penetran a través del tejido conectivo a la base del botón gustativo, para formar sinapsis químicas con las membranas basolaterales de las células gustativas.

Estas fibras aferentes provienen de los nervios craneales, VII, IX y X (Figura 8) para formar sinapsis en el núcleo del tracto solitario, que es el sitio en donde ocurre la primera etapa del procesamiento de la información gustativa. (Mesa Ruiz, 1995).

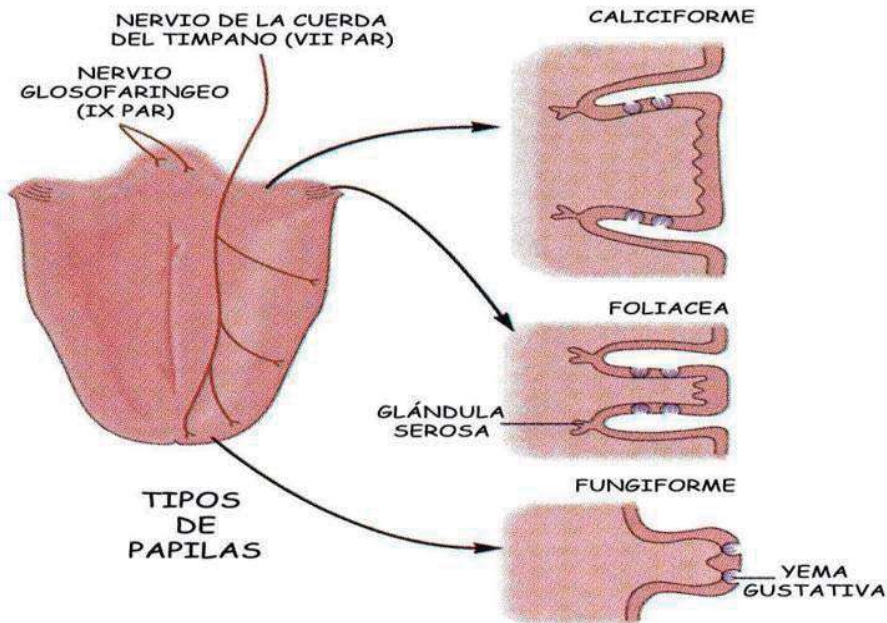


Figura 8. Gusto, inervación de la lengua por el vago (NV), el glossofaríngeo (NG) y el facial (NF) A la derecha la distribución de las papilas gustativas, caliciforme, foliácea y fungiforme. (Tomada de www.arsxxi.com).

Los botones gustativos se encuentran preferentemente en las papilas del epitelio lingual.

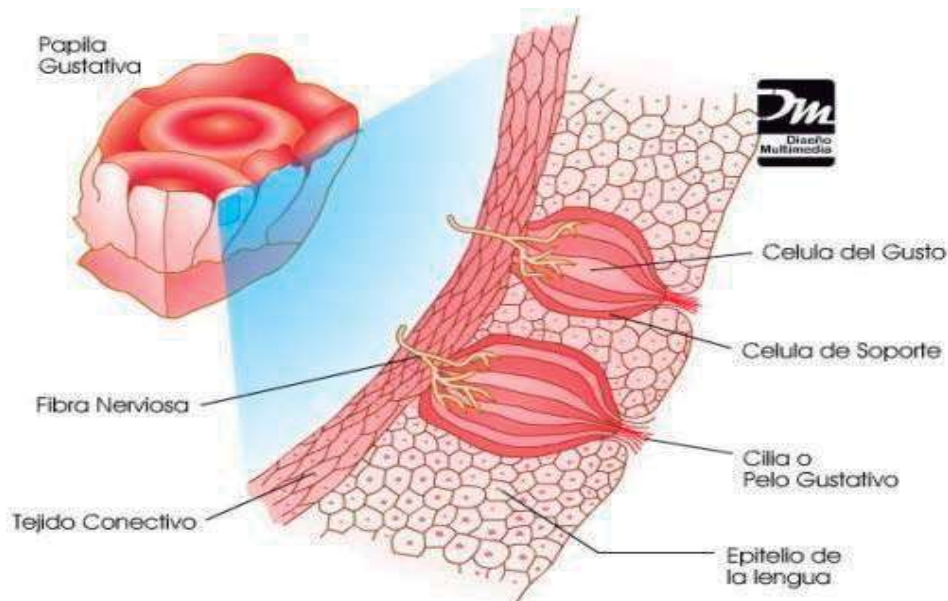


Figura 9. Distribución de los corpúsculos gustativos. (Tomada de www.diseñomultimedia.com).

En los vertebrados inferiores, las papilas gustativas distribuidas sobre la superficie dorsal de la lengua, contienen un solo corpúsculo gustativo. Los corpúsculos gustativos en estos animales están innervados por las ramas linguales del nervio craneal IX. En los mamíferos, las papilas fungiformes están localizadas en los dos tercios anteriores de la lengua y contienen de uno a nueve botones, innervados por la corda timpánica, que es una rama del nervio facial. Las papilas foliadas y caliciformes, localizadas en las superficies laterales y posteriores de la lengua, contienen docenas de corpúsculos gustativos innervados por el nervio glossofaríngeo (Figura 10).

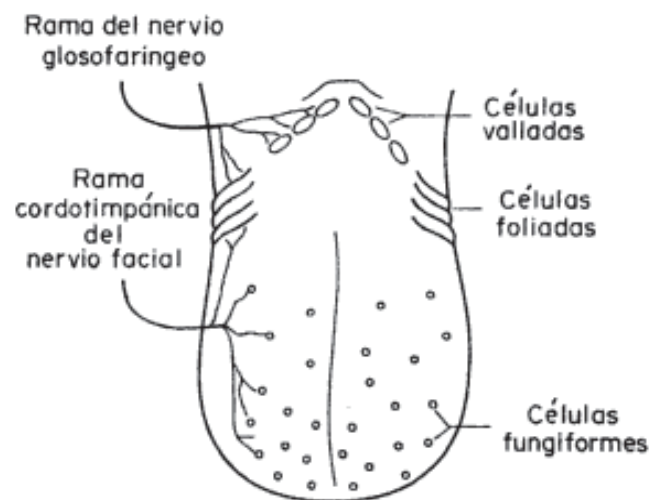


Figura 10. Innervación de los corpúsculos gustativos del mamífero. (Tomada de Mesa Ruiz, 1995)

Tipos de papilas gustativas. En el ser humano han encontrado tres tipos de papilas gustativas:

Fungiformes: Localizadas fundamentalmente en las dos terceras partes anteriores de la lengua, contienen el 24% de los botones gustativos de la misma.

Foliadas: Localizadas en la parte más lateral y posterior de la lengua, con el 28% de los botones gustativos de la lengua, los botones del gusto en esas papilas aparecen en la superficie epitelial. (Soriano Mas, 2007).

Circuvaladas o caliciformes: Localizadas en el tercio posterior de la lengua, con el 48% de los botones gustativos. (Soriano Mas, 2007). Estas papilas forman una V invertida atrás de la lengua. Las fibras de los nervios se ramifican muy ampliamente en las papilas, descubriéndose que una sola fibra tiene una gran divergencia y consecuentemente puede llegar a inervar a distintos corpúsculos gustativos.

Células de los corpúsculos gustativos

Células oscuras o tipo I o de sostén: Tienen un citoplasma oscuro con hematoxilina eosina. Al microscopio electrónico tienen mucho retículo endoplásmico, sobre todo liso y numerosas vesículas de secreción cuyo contenido es un material denso que se encuentra en el poro gustativo y que es el que le da oscuridad a la célula. A nivel del poro (apical) tienen pequeñas microvellosidades.

Células claras o tipo II: Son células neuroepiteliales. Estas células son pálidas con hematoxilina eosina. A nivel del poro presentan una larga microvellosidad que está inmersa en la sustancia del poro, por lo que se considera uno de los tipos de receptor, ya que captaría las sustancias disueltas en la sustancia del poro.

Células gustativas o tipo III: Son los verdaderos receptores del gusto, son células neuroepiteliales, porque se ve que en su citoplasma tienen vesículas neurosecretoras densas.

Células basales o tipo IV: Suelen ser más periféricas y son las células madre o células basales del epitelio. (Figura 11)

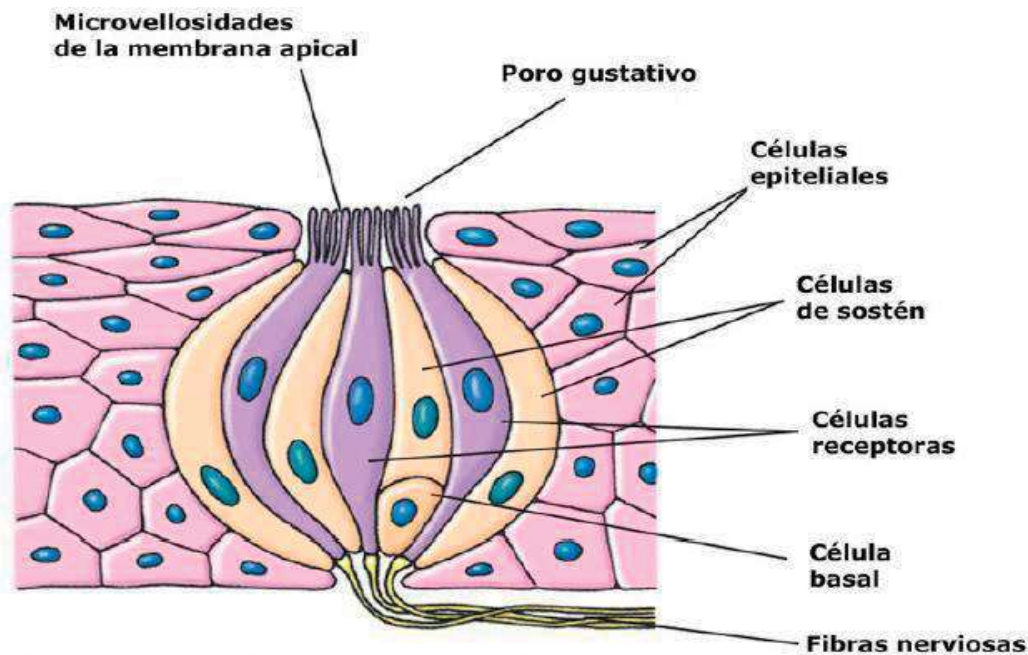


Figura 11. Representación de la estructura de un corpúsculo gustativo en vertebrados con sus diversas células (Tomada de www.uv.es/ramo/quimio/gustover.pdf).

En realidad, no hay diferencias morfológicas entre los receptores de los distintos sabores. En general, los sabores amargos y ácidos se suelen recoger en los botones gustativos de la porción posterior de la lengua, el sabor dulce se encuentra en la punta de la lengua y el sabor salado por los laterales de la lengua.

Inervación. Desde los botones gustativos emergen terminaciones nerviosas: terminaciones intergemales (entre los distintos botones gustativos) y terminaciones perigemales (por fuera de los botones gustativos). Las terminaciones son diferentes según la inervación de la lengua.

Según la localización de los receptores gustativos, esta sensibilidad se recoge mediante un par craneal u otro.

Trigémino o V par craneal: Química general de la boca.

Facial o VII par: 2/3 anteriores de la lengua.

Glossofaríngeo o IX par: parte posterior de la lengua.

Vago o X par: botones gustativos de la faringe y de la epiglotis. (Mesa Ruiz, 1995).

III.2.4. LA VÍA GUSTATIVA

Los axones sensitivos primarios que inervan las células receptoras gustativas se distribuyen en tres nervios craneales: facial (VII), glossofaríngeo (IX) y el vago (X). El nervio facial envía la información gustativa de los dos tercios anteriores de la lengua por medio de la cuerda timpánica (rama de este nervio); el glossofaríngeo envía información gustativa del tercio posterior de la lengua por medio de la rama lingual; para acabar, el par craneal vago envía la información gustativa proveniente de la epiglotis. Estos axones se proyectan hacia neuronas de las regiones rostral y lateral del núcleo del tracto solitario a la altura del bulbo raquídeo. (Soriano Mas et al., 2007).

En el núcleo gustativo del tracto solitario las vías divergen. La parte de la información que llega al hipotálamo lateral y a la amígdala es importante para el procesamiento de la información emocional y reforzante, relacionada con el gusto. Otra parte de la misma es la que va hacia el neocórtex y hace relevo en el núcleo ventral posteriomedial del tálamo. Las neuronas de este núcleo talámico envían sus axones hacia la corteza gustativa primaria (localizada en la corteza frontal insular y opercular). Las neuronas de esta región primaria proyectan hacia la corteza gustativa secundaria (localizada en la corteza orbitofrontal lateral caudal). (Figura 12.)

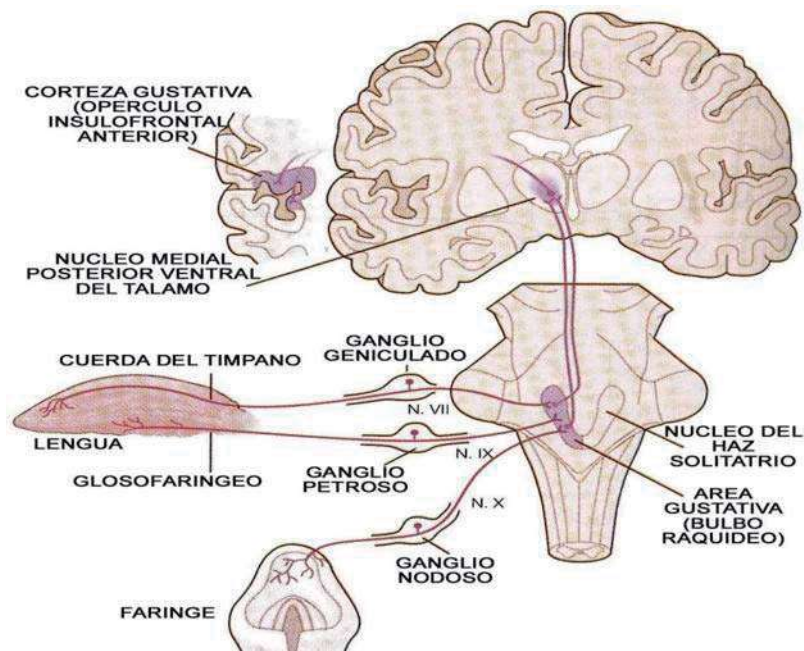
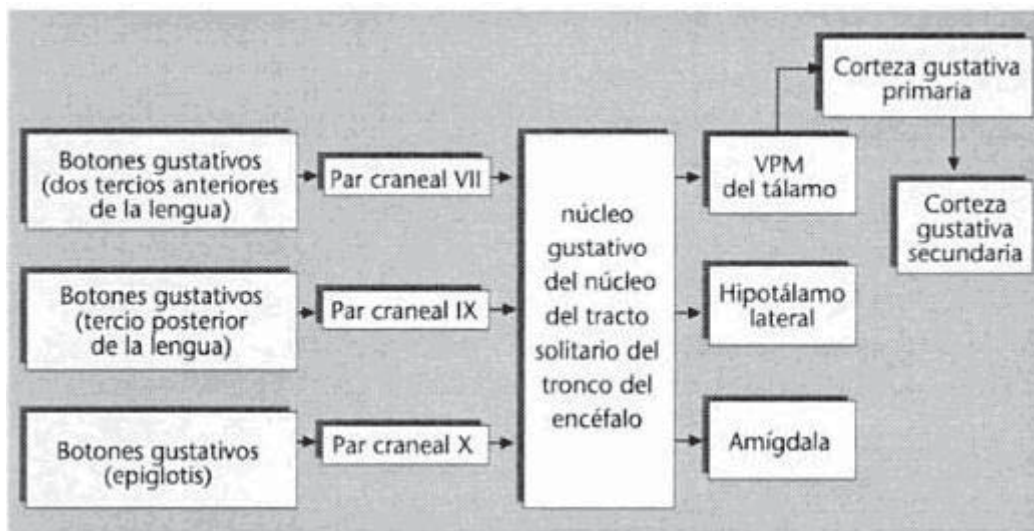


Figura 12. La vía nerviosa desde los receptores gustativos por la cadena ganglionar, las fibras aferentes gustativas que llegan al núcleo del haz solitario hacia el tálamo hasta la corteza gustativa. (Meza Ruiz, 1995) (Figura tomada de www.arsxxi.com)

Tabla V. RESUMEN DE LAS PRINCIPALES VÍAS DEL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN GUSTATIVA.



La información gustativa está procesada tanto en el ámbito cortical como en el subcortical. (Tomada de Soriano Mas, 2007)

III.2.5 MECANISMOS DE TRANSDUCCION EN LA CÉLULA GUSTATIVA

Las células gustativas, que constituyen los elementos transductores de la sensación gustativa, residen en botones gustativos del epitelio lingual. Hasta hace poco, no se conocían los mecanismos moleculares involucrados en la transducción gustativa. Esta falta de información se debió en gran parte al escaso número de células gustativas en el epitelio lingual y a que son muy pequeñas y por tanto son poco accesibles para el registro intracelular de sus propiedades eléctricas.

En años recientes, el uso de la técnica de registro de corrientes en micro áreas de membrana (patch-clamp) y el que utiliza técnicas ópticas en células gustativas aisladas, así como el empleo de la biología molecular, ha permitido comenzar a develar los diversos mecanismos de transducción que operan en estas células (Figuras 13 y 14).

Por lo anterior, se indica que las células gustativas, como otros receptores sensoriales, utilizan canales iónicos para la transducción (Figura 14). Sin embargo, a diferencia de otros mecanismos sensoriales, no existe un mecanismo exclusivo que pueda explicar por sí solo la transducción gustativa. Por el contrario, existe una variedad de mecanismos que parecen relacionarse con la complejidad química de las distintas modalidades gustativas a saber: dulce, ácido, salado, amargo y umami. (Figura 15). (Meza Ruiz et al., 1995)

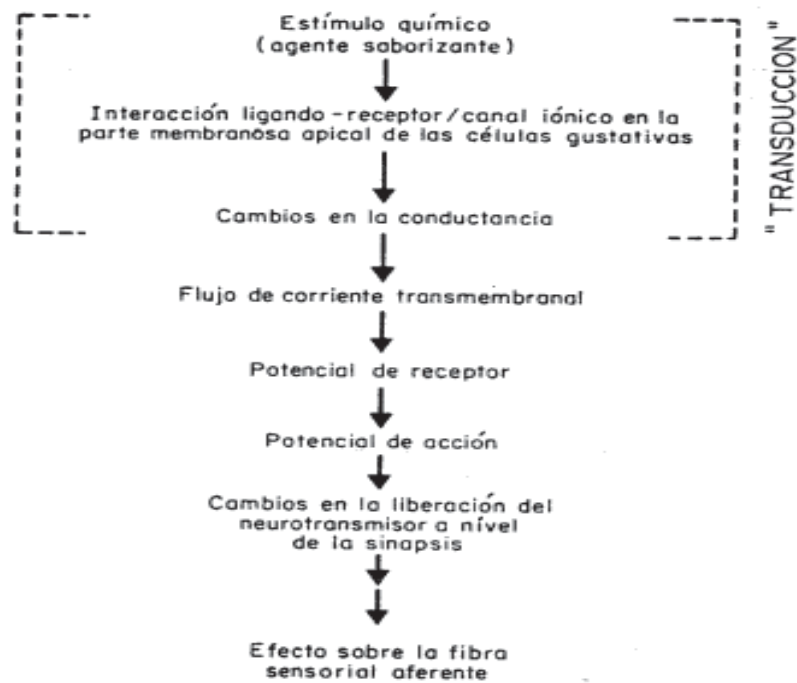


Figura 13. Secuencia de eventos que ocurren en la transducción sensorial gustativa. (Meza Ruiz., 1995)

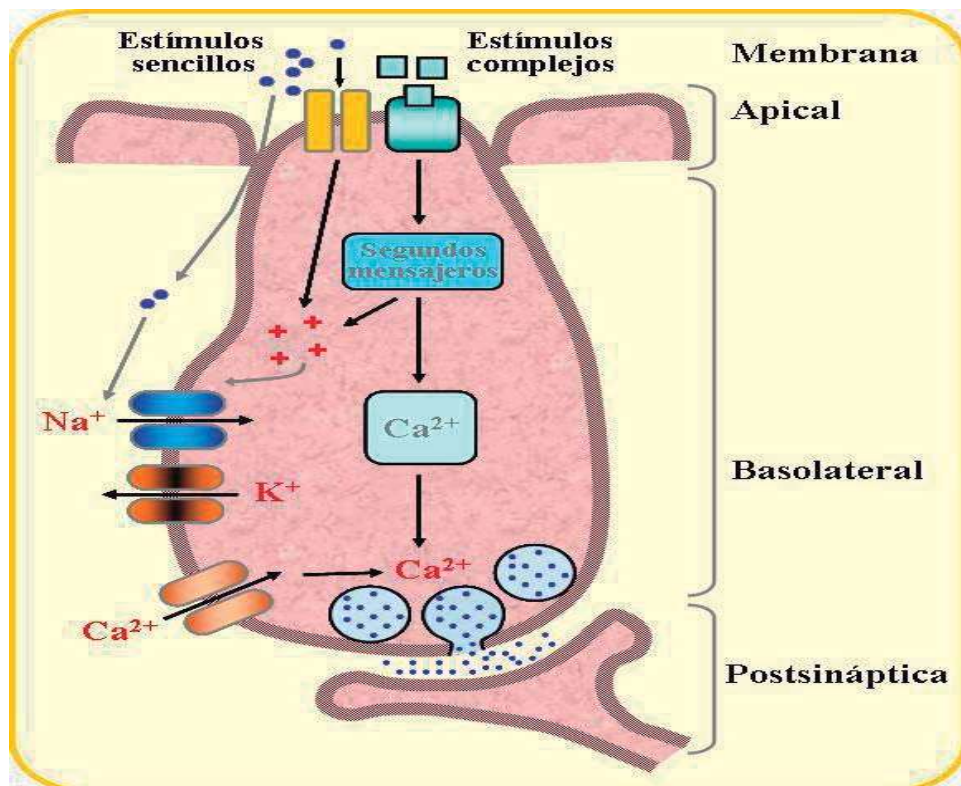


Figura 14. Transducción de la señal gustativa. (Tomada de www.arsxxi.com)

III.2. 6. ESTÍMULOS GUSTATIVOS

Los métodos para clasificar los agentes gustativos se han debatido por cerca de un siglo y son aún objeto de discusión. Sin embargo, básicamente los investigadores están de acuerdo en que las sensaciones gustativas se pueden dividir en 4; dulce, salado, ácido y amargo. Recientemente se ha reconocido una quinta sensación gustativa denominada umami, asociada con el aminoácido glutamato y algunos nucleótidos. (www.uv.es/ramo/quimio/gustover.pdf).

Esta clasificación se basa en parte en estudios electrofisiológicos y psicofísicos que han demostrado que la adaptación a una modalidad gustativa básica no tiene efecto sobre las otras. Por ejemplo, la adaptación a un determinado compuesto dulce producirá una disminución en la sensación gustativa a otros compuestos dulces pero no afectará la capacidad de percibir un compuesto ácido. (Mesa Ruiz., 1995)

Existe, por otra parte, un gran número de sustancias que no se ajustan a la definición de las 4 modalidades básicas (Schiffman y Ericsson, 1971). Por ejemplo, el KCl evoca el gusto salado y el amargo. Si la lengua es adaptada primero al NaCl, la exposición al KCl evocará solamente el gusto amargo. Además de la existencia de los compuestos que evocan más de una sensación gustativa, están otros que no entran dentro de esa clasificación. Un ejemplo sería el glutamato de sodio, el cual es el denominado sabor “umami”, que en japonés significa delicioso. La sensación gustativa “umami” es potenciada cuando el glutamato de sodio se combina con nucleótidos tales como GMP y el IMP. (Mesa Ruiz., 1995)

En general, el sabor ácido es una función de la concentración de protones, en tanto que el dulce es mediado por carbohidratos y algunos aminoácidos, compuestos que son importantes en la nutrición, mientras que el salado es producido por cationes monovalentes (equilibrio electrolítico). (Mesa Ruiz., 1995).

Por otra parte el sabor amargo es causado por una variedad de compuestos diferentes de muy diversa estructura química. Estos agentes incluyen a los cationes divalentes, a los alcaloides a algunos aminoácidos y al denatonio que es el agente gustativo amargo más potente que se conoce. (Mesa Ruiz., 1995)

Muchos de los compuestos que evocan el sabor amargo son tóxicos, lo que sugiere que esta modalidad gustativa puede haber evolucionado como un mecanismo de detección de sustancias potencialmente dañinas. En general, los estímulos gustativos son moléculas altamente hidrosolubles que actúan en concentraciones relativamente altas (de mM a M). (Mesa Ruiz., 1995)

III.2.7. MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN SENSORIAL GUSTATIVA

La transducción sensorial gustativa comprende varios mecanismos distintos; pueden ser simples, tales como los estímulos iónicos; que son desencadenados por las sales o los ácidos o complejos como los provocados por los aminoácidos, los edulcorantes o los sabores amargos que utilizan receptores acoplados a proteínas G.

En la mayoría de los casos, la transducción conduce a la despolarización al inicio del potencial de acción, lo que conlleva la activación de canales de calcio sensibles al voltaje y finalmente a la liberación del neurotransmisor (Figura 15).

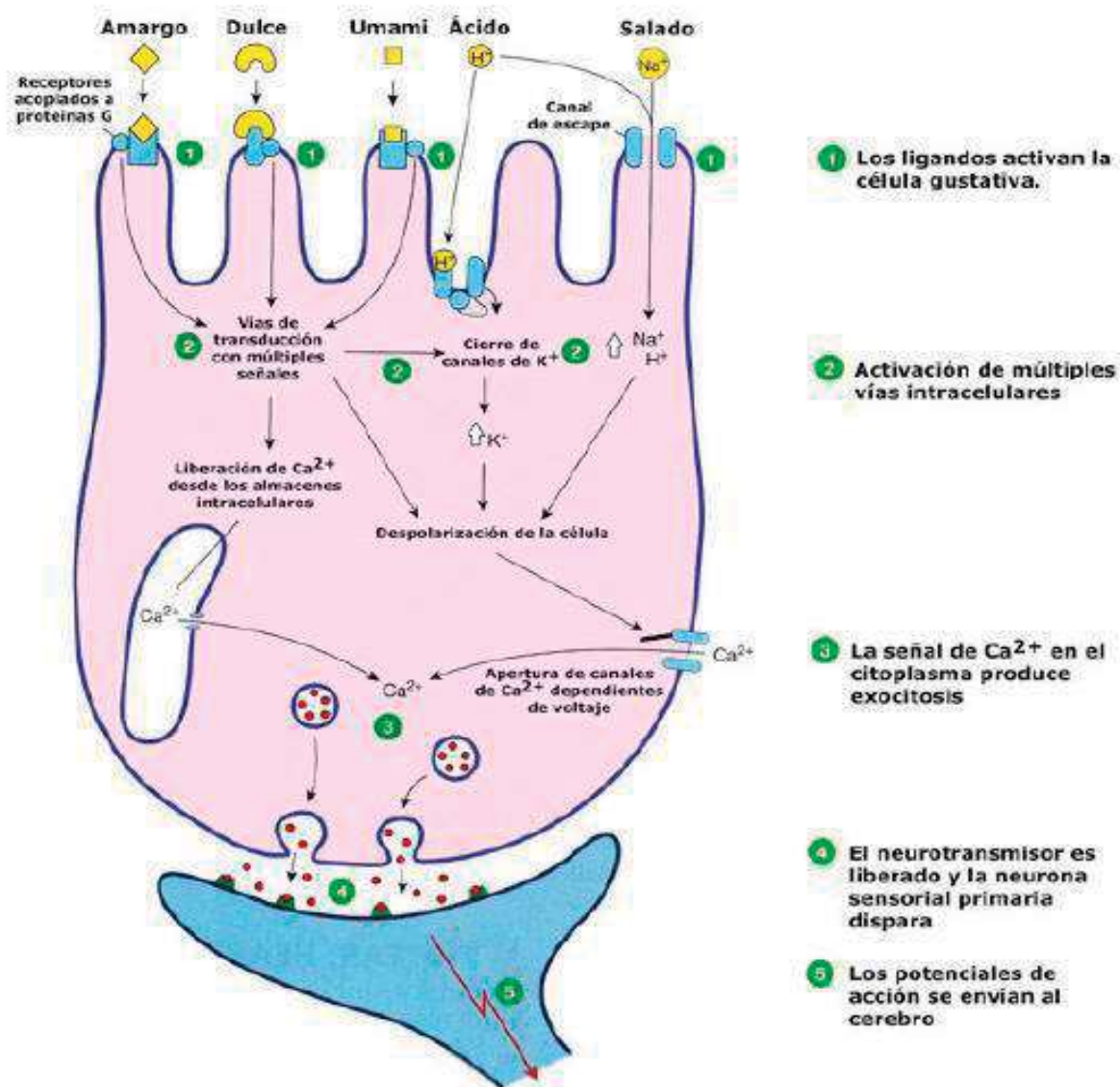


Figura 15. Resumen de los mecanismos de transducción de los diferentes sabores (Tomada de www.uv.es/ramo/quimio/gustovert.pdf)

Cada célula receptora gustativa individual reacciona a un estímulo particular y cada clase de estímulo gustativo activa una vía celular distinta en los receptores que responden a él. Los ligandos para los sabores amargo, dulce y umami se unen a receptores de membrana y activan sistemas de segundos mensajeros, mientras que los iones que indican los sabores salado (Na^+) y ácido (H^+) entran en la célula gustativa a través de canales iónicos. (www.uv.es/ramo/quimio/gustovert.pdf) (Figuras 16 y 17).

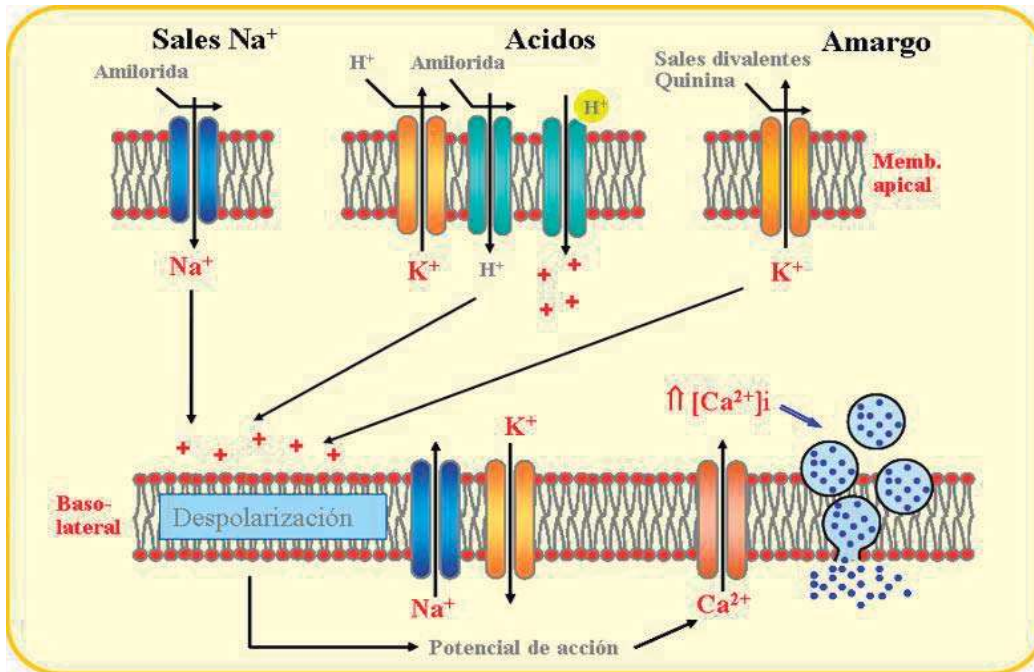


Figura 16. Mecanismos de transducción de las señales gustativas mediadas por los sabores salado, ácido y amargo. (Tomada de www.uv.es/ramo/quimio/gustover.pdf).

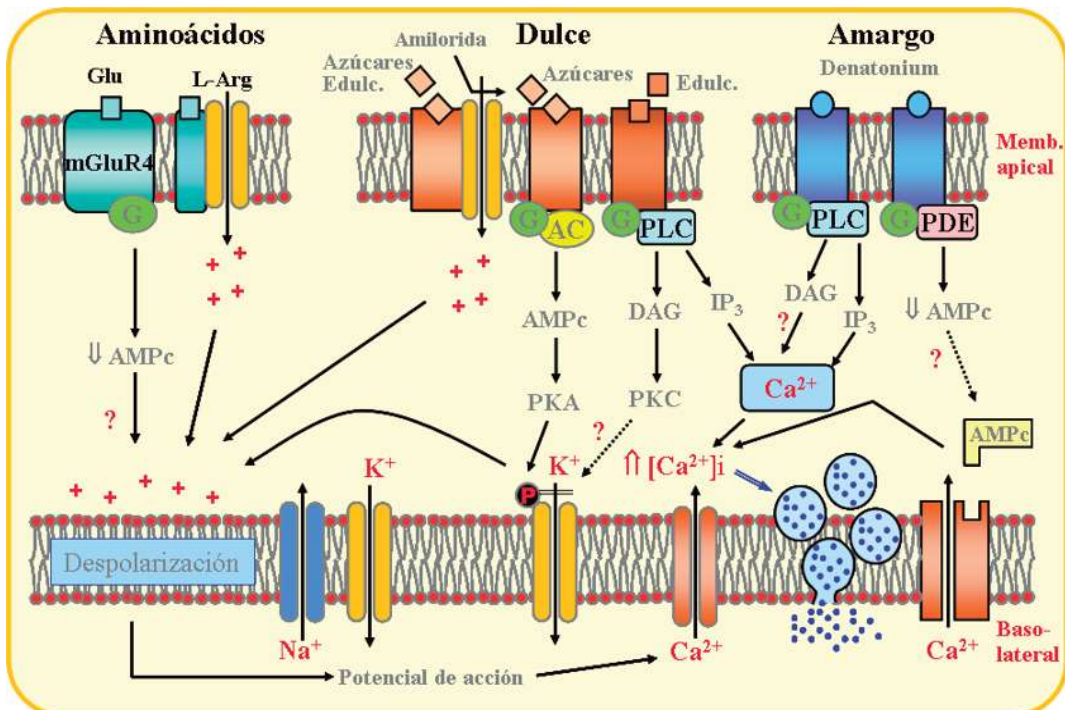


Figura 17. Mecanismos de transducción mediados por receptores para los sabores dulce, amargo y aminoácidos (umami). (Tomada de www.uv.es/ramo/quimio/gustover.pdf).

POTENCIADORES DEL SABOR

Arg: Canales catiónicos

Expresión de mGluR4 en células de epitelio gustativo

Ala, Glu: Familias de receptores; mGluR e iGluR

Glu → Variación de $[Ca^{2+}]_i$ a través de segundos mensajeros

Sinergismo entre Glu y NMP

(Nucleósido Monofosfato): receptor alostérico con dos sitios distintos de unión.

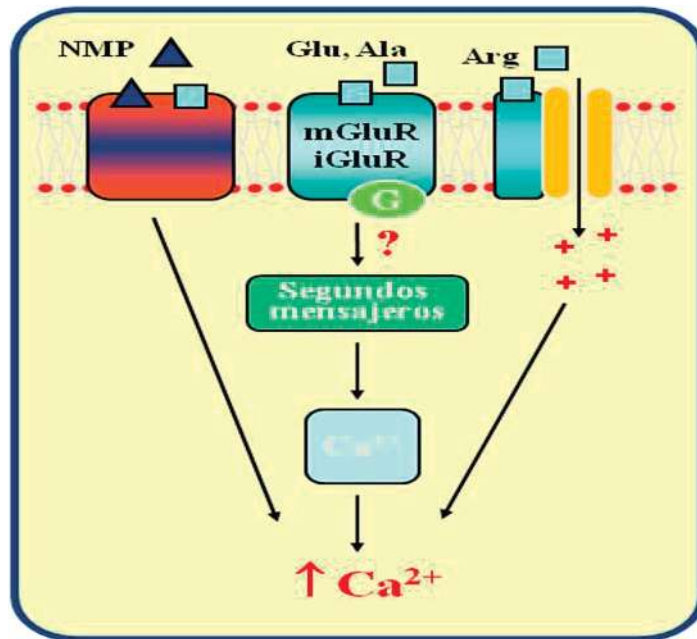


Figura 18. Potenciadores del sabor. (Tomada de www.uv.es/ramo/quimio/gustovert.pdf).

Canales iónicos apicales

Salado: El sabor salado, específicamente el de las sales de Na^+ , fue el primer mecanismo de transducción que se estudió con detalle. Así, el sabor evocado por el Na^+ se traduce por cambios de potencial mediados por canales de Na^+ presentes en la membrana apical de las células gustativas en la rana y en mamíferos; el Na^+ difunde pasivamente a través de canales en la membrana apical y despolariza a la célula gustativa. Estos canales de Na^+ son una característica común de muchos epitelios, incluyendo el epitelio lingual. La primera evidencia que sugirió que la transducción del sabor salado debido al Na^+ era mediado por canales iónicos, fue un estudio que demostró que la respuesta aferente sensorial al Na^+ era inhibida por la amilorida, un fármaco diurético que bloquea canales de Na^+ apicales en otros tejidos epiteliales (Schiffman et al., 1983; y Heck et al., 1984). Además, estudios psicofísicos en humanos indican que la aplicación de la amilorida en la lengua bloquea específicamente el sabor salado debido al Na^+ . Recientemente registros de “match clamp” de la membrana de células gustativas aisladas de la rana, han demostrado directamente la presencia de canales de Na^+ sensibles a la amilorida (Avenet y Lindemann, 1998).

Sin embargo, la amilorida no bloquea la respuesta al Na^+ en todas las especies, de modo que es posible que existan otros mecanismos de transducción al sabor salado.

Además de los canales apicales selectivos al Na^+ , la transducción de sales de K^+ parece estar mediada por canales apicales selectivos a este catión. La evidencia experimental indica que los bloqueadores de canales de K^+ inhiben tanto el cambio de potencial de membrana causado por este catión monovalente (Kinnamon y Roper., 1988), como la descarga de la fibra sensorial después de la aplicación de sales de K^+ sobre la lengua (Kim y Mistretta, 1986). Los iones potasio difunden pasivamente a través de canales apicales, produciendo la despolarización de las células gustativas.

Ácido: La transducción de esta modalidad gustativa tampoco requiere receptores gustativos específicos. Los protones parecen permear o bloquear los mismos canales apicales que median la transducción de otros cationes monovalentes. Por ejemplo se ha demostrado que los protones pueden permear canales de Na^+ sensibles a la amilorida para despolarizar la membrana de la célula gustativa. En la lengua intacta de hamster, se ha demostrado que se produce el disparo de potenciales de acción en respuesta al ácido cítrico aplicado en el poro gustativo y que dicha actividad eléctrica es inhibida por la amilorida (Gilbertson et al., 1992). La idea de que el mismo tipo de canales sensibles a la amilorida es responsable de la respuesta al Na^+ y a los H^+ es apoyada por el hecho de que la actividad eléctrica, evocada por ambos estímulos, es bloqueada por concentraciones similares de amilorida y porque hay una interacción cuando ambos estímulos son aplicados simultáneamente. Esta hipótesis ha sido confirmada experimentalmente en células gustativas aisladas (Gilbertson et al., 1993). Las corrientes de protones están restringidas a aquellas células gustativas que expresan canales de Na^+ sensibles a la amilorida. La vasopresina, una hormona que regula también en el epitelio lingual, produce un aumento considerable en la amplitud de las corrientes de Na^+ y de protones, sensibles a la amilorida en las células gustativas, mientras que esta respuesta es imitada al exponer las células al 8-bromo AMPc (Gilbertson et al., 1993).

Estudios posteriores demostraron que los canales de K^+ , que son bloqueados por los iones hidrógeno, se ubican en una región muy restringida de la membrana apical de las células gustativas (Kinnamon et al., 1988). Estudios más recientes comprobaron que la membrana apical posee una variedad de canales de K^+ que exhiben distintas conductancias unitarias y difieren en su sensibilidad al potencial de la membrana (Cummings y Kinnamon., 1992). Todos estos canales son bloqueados directamente por los protones desde la superficie apical. Considerando que estos canales exhiben una probabilidad de apertura en el potencial de reposo muy significativa, el bloqueo por protones produce despolarización de la membrana. Se ignora en la actualidad si los canales de K^+ sensibles al voltaje participan en la transducción del sabor ácido en los mamíferos. Es probable que en estos últimos existan mecanismos adicionales de transducción ácida, dado que ellos pueden distinguir fácilmente el sabor ácido del salado.

Mecanismos de transducción mediados por receptores de tipo proteico

Canales activados por ligandos. En la especie de pez llamado “pez cebra”, existe evidencia de que la transducción gustativa de los aminoácidos L-arginina y L-prolina es mediada por canales catiónicos activados directamente por estos ligandos. Fragmentos vesiculares del epitelio gustativo de este pez han sido incorporados a bicapas lipídicas planas, en estas condiciones, la L-arginina (Teeter et al., 1990) y la L-prolina (Kumazana et al., 1990) activan canales selectivos a cationes, sugiriendo un acoplamiento directo entre los canales iónicos no específicos y receptores a aminoácidos. El canal activado por la L-arginina no discrimina entre los diferentes cationes, tiene una conductancia de 45 pS y alcanza una activación máxima a concentraciones de 100-200 μ M de arginina. El canal activado por prolina posee una conductancia de 49 pS y una activación máxima por este ligando a concentraciones de 2-4 μ M. Estas concentraciones son consistentes con las afinidades de estos ligandos por sus receptores y con las respuestas electrofisiológicas provocadas por estos aminoácidos. Estudios similares realizados en bicapas lipídicas usando membranas derivadas de las papilas gustativas de ratón, sugieren la presencia de canales iónicos activados específicamente por el glutamato (Figura 18) (Teeter et al., 1992; Brand et al., 1991). El GMP cíclico, que por sí solo no tiene un efecto en la de conductancia, potencia la respuesta a glutamato.

La conductancia activada por el glutamato es más selectiva para Na^+ que para K^+ y también es permeable a Ca^{2+} . Los canales derivados del epitelio gustativo del ratón, activados por glutamato e incorporados a bicapas de lípidos, despliegan niveles de conductancia en la gama de entre 18 y 150 pS. En algunos casos, se observa la activación de canales por el NMDA, sugiriendo que estos canales son similares a los receptores de NMDA del cerebro.

Receptores acoplados a proteínas G. Recientemente se han clonado varias proteínas G de bibliotecas genómicas obtenidas de papilas valladas de la rata. Una de estas proteínas G, la gustoducina o G_{gust} se expresa específicamente en los botones gustativos de las papilas gustativas y no es detectable en otros tejidos (McLaughlin et al., 1992). La gustoducina presenta una secuencia de aminoácidos muy similar a la de la transducina de los conos y bastones de la retina. Esto sugiere que esta proteína G de las células gustativas podría activar una fosfodiesterasa. Sin embargo, el papel preciso que juegan estas proteínas en las células gustativas no ha sido definido aún. La G_s , una proteína G que estimula la actividad de la enzima adenilato ciclasa, así como la G_i , la G_{12} y la G_{14} , estas últimas activadoras de la fosfolipasa C, se expresan también en los botones gustativos. Además, ambas enzimas han sido identificadas en el tejido gustativo (Kurihara y Koyama, 1972; Hwang et al., 1990; Striem et al., 1989). Se cree que los receptores de membrana acoplados a proteínas G participan en la transducción de estímulos gustativos dulces y algunos amargos en los roedores.

Dulce: Diferentes estudios han aportado evidencia de que la transducción de agentes gustativos dulces en los roedores podría implicar el cierre de canales de K^+ a través de un mecanismo mediado por nucleótidos cíclicos (Figura 17). La primera evidencia que involucró los nucleótidos cíclicos en la transducción de esta modalidad gustativa se derivó de estudios bioquímicos. Los agentes gustativos dulces producen un aumento en la actividad de la adenilato ciclasa en preparaciones de membrana obtenidos de la lengua de rata (Striem et al., 1989). El aumento en la producción de AMPc es dependiente de GTP y es bloqueado por un inhibidor específico del sabor dulce (Striem et al., 1990).

Registros electrofisiológicos obtenidos de botones gustativos “*in situ*” de la lengua de hamster, indican que los agentes dulces generan el disparo de potenciales de acción en las células gustativas, efecto que es imitado al exponer las células gustativas a análogos permeables del AMPc y del GMPc (Cummings et al., 1993).

Varios estudios han relacionado al K^+ en la transducción de esta modalidad gustativa. Por ejemplo, se ha demostrado que las células gustativas del ratón sufren una despolarización en respuesta a la sacarosa. Un efecto similar se obtiene por la inyección intracelular de nucleótidos cíclicos. Registros de “match clamp” de la membrana de células gustativas, han demostrado que el efecto despolarizante de los agentes gustativos dulces se debe a una disminución en la conductancia al K^+ (Tonosaki y Funakioshi., 1988; Béhé et al., 1990). Los análogos del AMPc producen un efecto similar (Cummings et al., 1991). Finalmente, en la rana, el AMPc despolariza las células gustativas, este efecto se debe a la activación de una cinasa dependiente del AMPc, la cual fosforila canales de K^+ produciendo un cierre de éstos (Avenet et al., 1988). Sin embargo en la rana, la respuesta a agentes gustativos dulces, si existe es muy débil y, por lo tanto, no es claro si la respuesta a sabores dulces de las células gustativas en estos animales, esté relacionada con la transducción gustativa específica de esta modalidad.

Amargo: El gran número de agentes gustativos que existe, así como su diversa estructura química, sugiere la presencia de múltiples mecanismos de transducción. Estudios recientes realizados en células gustativas de la rata, indican que un mecanismo asociado específicamente a la transducción de agentes gustativos amargos involucra a receptores acoplados a la fosfolipasa C. Hay estudios en los que se usó el indicador de calcio Fura-2, para seguir los cambios en el Ca^{2+} intracelular después de estimular células gustativas de la rata con cloruro de denatonio, agente químico sumamente amargo, y se encontró que éste inducía un aumento en los niveles internos de Ca^{2+} en un subconjunto de células gustativas. (Akabas et al., 1988)

Esta respuesta es independiente del potencial de la membrana y no requiere de un flujo de Ca^{2+} desde el medio externo, sugiriendo que este catión divalente es liberado desde sitios de almacenamiento intracelulares. Este Ca^{2+} sería suficiente para provocar la liberación de neurotransmisores desde las terminales sinápticas. Estudios bioquímicos más recientes han demostrado que el retículo endoplásmico apical de las células gustativas posee receptores para el inositol trifosfato (IP_3). El segundo mensajero AMPc produce aumentos en la concentración de IP_3 en estas mismas (Hwang et al., 1990), sugiriendo la presencia de un sistema de regulación de la concentración de Ca^{2+} .

Un estudio independiente ha mostrado que otros agentes amargos, como la estricnina producen también un aumento en la concentración de IP_3 y provocan en consecuencia, la liberación de Ca^{2+} desde sitios de almacenamiento intracelulares. No se sabe aún si este Ca^{2+} liberado es suficiente para estimular la salida del neurotransmisor. Además, es posible que existan otros mecanismos de transducción asociados a agentes químicos que evoquen el sabor amargo luego de una despolarización de las células y la consecuente entrada de Ca^{2+} sensible al voltaje. Si esta despolarización no está directamente relacionada con un aumento en la secreción del neurotransmisor, la transducción del sabor amargo no requeriría la integración a nivel de la membrana plasmática, como ocurre con otros estímulos gustativos. (Meza Ruiz., 1995).

Umami: El descubridor de la molécula responsable de esta modalidad gustativa fue el investigador japonés Kihunae Ikeda en 1908, demostrando que el secreto de este particular sabor era un aminoácido, el glutamato monosódico (www.cienciadigital.com). Sin embargo solo recientemente es que esta modalidad gustativa fue aceptada como otro sabor básico por el público en general. Más tarde se comprobaba que la percepción del umami se veía muy aumentada cuando además del aminoácido había otras sustancias químicas en el alimento ingerido: ribonucleótidos purínicos IMP y GMP. (Figura 18) (Yamaguchi y Ninomiya., 2000).

Aminoácidos como la prolina, la arginina o el glutamato son capaces de despolarizar las células gustativas cuando se unen a canales proteicos para determinados cationes. Otros aminoácidos, como la leucina, tienen sabor amargo y sus mecanismos de transducción involucran sistemas de segundos mensajeros. (Soriano Mas., 2007).

A principios del año 2000, la revista *Nature Neuroscience* publicaba el hallazgo de un receptor gustativo específico para el glutamato monosódico y otras sustancias similares, lo cual fue aceptado como la prueba definitiva de que el umami es sin lugar a dudas un sabor básico. El receptor mGluR4, de los mGluRs receptores metabotrópicos de glutamato fue hallado en la lengua de roedores, en los que se había observado una percepción del gusto muy similar a la de los seres humanos. (Yamaguchi y Ninomiya., 2000).

Los receptores candidatos que identificaron Zuker, Ryba y sus colaboradores, son proteínas complejas (receptores acoplados a proteínas G) que se encuentran en la superficie de las células gustativas (Chandrasekhar et al., 2006). Cuando son estimuladas, estas proteínas activan la maquinaria celular interna, que comienza el proceso de enviar una señal gustativa al cerebro.

El receptor umami es una combinación de dos subunidades proteicas llamadas T1R1 y T1R3. El sabor dulce por otra parte esta mediado por 2 receptores diferentes: una combinación de T1R2 y T1R3, que responde a edulcorantes naturales y artificiales y por T1R3 que sólo responde a altas concentraciones de azúcar. (Li et al., 2002; Nelson et al., 2002). Se demostró en experimentos posteriores que los ratones que carecían de estas subunidades proteicas perdían el estímulo al umami o al dulce respectivamente. (Zuker., 2006).

III.3 ALTERACIONES EN LA PERCEPCIÓN GUSTATIVA

La pobreza de datos científicos existentes en relación con las alteraciones del gusto en el ser humano es consecuencia de la gran variabilidad de las vías nerviosas gustativas detectada entre las especies estudiadas y, por ello, los datos obtenidos en diversos modelos animales son difíciles de extrapolar al humano. Por otra parte, en la percepción del sabor se entremezclan diferentes sensaciones que dificultan su análisis; así los estímulos gustativos están interrelacionados con los olfatorios de modo que la pérdida de olfato comporta incapacidad para diferenciar sabores; además en la percepción del sabor también intervienen los receptores somatosensoriales (que informan sobre la textura de los alimentos) y los receptores algésicos (en el caso de los picantes), ambos tipos de receptores dependientes del nervio trigémino. (Sánchez-Juan y Combarros., 2001).

III.3.1.MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y EXAMEN FUNCIONAL DEL GUSTO

Clásicamente, las alteraciones del gusto se clasifican en dos grandes grupos: cualitativas y cuantitativas (Doty et al., 1992; Snow y Martin., 1998). La alteración cualitativa del gusto más habitual es la disgeucia, que consiste en una sensación gustativa extraña o distorsionada ante estímulos convencionales. También es una alteración cualitativa del gusto la aliestesia o pérdida de la capacidad hedónica o de disfrute en la percepción de los sabores; los cuales quedan desprovistos de su carga afectiva. El grupo de las alteraciones cuantitativas del gusto comprende a la ageusia o pérdida total del gusto y la hipogeusia o disminución del mismo, pudiendo ser ambas para todos los sabores (total), o solo para alguno de ellos (parcial). En la hipogeusia existe un aumento en el umbral de detección del sabor, y por ello el estímulo gustativo requerirá de menores diluciones en los test químicos y de mayores voltajes en las pruebas eléctricas para poder percibirse. Por otro lado, la hipergeusia es un fenómeno clínico bastante raro que consiste en una sensación gustativa anormalmente intensa. Capítulo aparte lo constituyen las alucinaciones gustativas, es decir la percepción de sabores en ausencia de estímulos reales. Típicamente descritas como auras de enfermos epilépticos, también pueden darse en enfermedades psiquiátricas como la esquizofrenia y otras psicosis. (Sánchez-Juan y Combarros., 2001).

Los estudios funcionales del gusto consisten en test para evaluar la percepción gustativa tras estimular específicamente los receptores por medios químicos (Doty et al., 1992; Finelli y Mair., 2000) o eléctricos (Grant et al., 1987). Los test químicos consisten en la evaluación semicuantitativa del gusto al estimular los receptores con soluciones que representan los 4 sabores primarios (agrio, salado, dulce y amargo), y a los que recientemente se ha unido el L-glutamato, conocido en la cocina oriental como umami (Reilly, 2000). En la práctica se utilizan soluciones de ácido cítrico (al 1, 5 y 10%), cloruro sódico (al 2.5, 7.5 y 15%), glucosa (al 1, 10 y 40%) e hidrocloreuro de quinina (al 0.075, 0.5 y 1%). Para poder comparar el gusto en ambas hemilenguas, así como entre la parte anterior y posterior de cada una de ellas, se aplican unas gotas de cada solución mediante una pipeta sobre la superficie correspondiente señalando posteriormente en un papel el nombre del sabor que se cree reconocer.

Se iniciará el examen con las soluciones menos concentradas y es importante analizar el sabor amargo al final porque suele dejar un gusto persistente, debiéndose enjuagar la boca tras cada prueba. Mediante la utilización de intensidades crecientes de estimulación eléctrica que provoca sabores metálicos en la lengua, el electrogustómetro proporciona información cuantitativa del gusto, pero su uso en clínica no se ha generalizado. (Sánchez-Juan y Combarros., 2001).

III.3.2.DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE LAS ALTERACIONES GUSTATIVAS

La incidencia de las alteraciones del gusto y olfato no es en absoluto despreciable y así, a modo de ejemplo se ha estimado que en EE.UU. aproximadamente 200,000 visitas medicas al año tienen como motivo principal de consulta las alteraciones de estos sentidos (Ackerman y Kasbekar, 1997). Para el diagnostico etiológico de los trastornos del gusto es útil establecer una división entre causas no neurológicas y causas neurológicas, es decir, procesos que lesionan a las vías gustativas en cualquier punto de su trayecto. (Sánchez-Juan y Combarros, 2001).

Tabla VI. CAUSAS NO NEUROLÓGICAS DE LOS TRASTORNOS GUSTATIVOS

Causas	Ejemplos
Infecciones	Herpes simple, sialoadenitis, candidiasis oral, infección respiratoria viral.
Locales	Síndrome de Sjögren, hipoplasia facial, radioterapia.
Fármacos	Penicilamina, captopril.
Nutricionales	Caquexia, insuficiencia renal crónica, cirrosis hepática, déficit de vitamina B ₃ o B ₁₂ , déficit de cinc, cáncer.
Endocrinológicas	Hiperplasia congénita suprarrenal, panhipopituitarismo, síndrome de cushing, hipotiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, diabetes mellitus.
Psiquiátricas	Depresión, esquizofrenia.

(Modificada de Sánchez-Juan y Combarros, 2001)

Tabla VII. CAUSAS NEUROLÓGICAS DE LOS TRASTORNOS GUSTATIVOS.

Causas	Ejemplos
Causas periféricas	
Lesiones del nervio lingual	Intervenciones odontológicas, intubación orotraqueal, cirugía de mandíbula, síndrome de Guillain Barré.
Afectación ganglio-radicular del trigémino	Cirugía de la neuralgia del trigémino, neuropatía sensitiva del trigémino.
Lesiones del nervio facial: Parálisis de Bell, disección carotídea interna extracraneal.	

(Modificada de Sánchez-Juan y Combarros, 2001)

Causas centrales	
Lesiones troncoen- cefálicas	Ictus, esclerosis múltiple
Lesiones talámicas	Tumores, esclerosis múltiple, ictus.
Lesiones corticales	Epilepsia, ictus, tumores.
Otras causas de topografía indeterminada: Traumatismos craneoencefálicos, Mal de altura, Neuropatía sensitiva y autonómica hereditaria tipo III o síndrome de Riley-Day.	

(Modificada de Sánchez-Juan y Combarros, 2001)

CAUSAS NO NEUROLÓGICAS.

Sin olvidar que el umbral de detección para los sabores aumenta de forma fisiológica con la edad en sujetos sanos y tras consumo prolongado de tabaco, son las causas de origen extra neurológico del grupo más frecuente y numeroso de alteraciones del gusto. Las causas más frecuentes son las viriasis de vías respiratorias altas, apareciendo disgeucia reversible en el 35% de los casos (Ackerman y Kasbekar, 1997). Igualmente son muy comunes los procesos locales infecciosos de la cavidad oral que conducen a una alteración de la saliva, y en este grupo se pueden incluir también enfermedades como el síndrome de Sjögren que cursa con una disminución de la secreción salival (xerostomía) (Doty et al., 1992).

En este último caso, la hipogeusia parece deberse a la disminución del número de papilas o yemas gustativas por déficit del efecto trófico de la saliva, y probablemente también por afección funcional en el entorno del receptor (Doty et al., 1992).

Otra causa importante de alteración del gusto son los fármacos, especialmente aquellos que poseen en su molécula un grupo sulfidrido, como es el caso de la penicilamina o el captopril, porque actúan como quelantes y favorecen la eliminación del cinc y el cobre y la carencia de cinc es una causa de disfunción gustativa (Ackerman y Kasbekar, 1997). Fármacos como los anticolinérgicos provocan xerostomía y en consecuencia, disminución del gusto, y también se han descrito alteraciones del gusto con muchos otros fármacos (fenitoína, carbamazepina, levodopa, litio, propranolol, etc.). Procesos sistémicos como la malnutrición y estados carenciales (especialmente el déficit de cinc), insuficiencia suprarrenal, enfermedades neoplásicas, etc., son otra causa de pérdida de gusto. Concretamente, en los pacientes oncológicos la radioterapia de la cavidad oral y la quimioterapia pueden dañar directamente las células quimiorreceptores, debido a su elevado índice de recambio celular. (Sánchez-Juan y Combarros, 2001).

CAUSAS NEUROLÓGICAS

Las causas neurológicas están subdivididas en dos grande grupos, atendiendo a la afectación de las vías nerviosas periféricas o centrales. Teniendo en cuenta todas las causas de déficit gustativo anteriormente citadas, para realizar una aproximación a un diagnóstico etiológico se realizara siguiendo estas recomendaciones generales. (Combarros, 1997; Schiffman, 1983).

1.- Existe una estrecha relación del gusto con el olfato, y así con frecuencia se confunden los términos de gusto (entendido como la sensación primaria gustativa) y sabor (que incluiría además la información olfativa y somatosensorial del alimento). Por ello ante un supuesto déficit gustativo, es preciso descartar que no se trate de una alteración olfatoria primaria, que suele ser más frecuente.

2.- Como quiera que las alteraciones locales de la cavidad oral son causas muy frecuentes de disfunción gustativa, es preciso efectuar una detallada exploración de la misma, prestando un especial interés al estado de la saliva. Para ello, en ocasiones será necesario realizar pruebas funcionales de secreción salival e incluso biopsia de labio inferior. (Sánchez-Juan y Combarros, 2001).

3.- La medicación que toma el paciente debe ser cuidadosamente recogida en la anamnesis, porque puede estar directamente asociada con alteraciones del gusto.

4.- La valoración de las vías nerviosas del gusto exigirá una completa exploración neurológica con especial hincapié en la observación de los nervios craneales. La realización de pruebas neurofisiológicas como la conducción del nervio facial y el reflejo de pestañeo nos aportará información sobre el arco reflejo trigémino-facial, muy útil para conocer el estado de las vías periféricas gustativas. Por último, las pruebas de neuroimagen (tomografía axial computarizada [TAC] y resonancia magnética nuclear [RMN]) son muy útiles para el examen de las vías gustativas centrales. (Sánchez-Juan y Combarros, 2001).

IV. INHALABLES DE ABUSO Y CONSUMO DE ALIMENTO

Evidencia epidemiológica indica que la exposición crónica a disolventes de abuso puede producir, entre otros efectos, la pérdida del apetito. Los mecanismos por los cuales se produce esta pérdida de apetito aún se desconocen. Una cuestión interesante sería determinar si la pérdida de apetito está relacionada con cambios en la percepción gustativa.

En 1984, Miyagawa et al. encontraron que administrando tolueno, 200-800 i.p. o 20-40ml/kg i.v. a ratas o por inhalación (1650-3300 ppm por 4hr), se inducen aversiones gustativas y de aprendizaje (dependiendo de la dosis), sugiriendo que el tolueno estimula cambios o aversiones conductuales.

En estudios similares encontrados por Bushnell y Peele (1988), se observó que la inhalación de p-xileno (200-1600 ppm por 4hr) reduce la ingesta de sacarina con una máxima aversión a 800 y 1600 ppm.

Más tarde fue reportado que la administración aguda de tolueno en ratas, 1.3 ml/kg por día i.p. por 4 días, produce una reducción en la ingesta de alimento y en el aumento de peso (Morón et al., 2004), sugiriendo que el hipotálamo está involucrado en el efecto de anorexia inducido por la administración de altas dosis de tolueno.

Uno de los sabores básicos detectados por el sistema gustativo es el umami (GMS) y se ha propuesto que los receptores glutamatérgicos pueden jugar un papel importante en la transducción y percepción de este sabor. Sin embargo, aún se desconoce si la exposición crónica a disolventes de abuso induce alteraciones en la percepción del sabor umami y consumo de alimento.

Como se recordará, el sistema gustativo está dividido anatómicamente en dos componentes: uno a nivel del sistema nervioso central y otro a nivel periférico; no obstante, aún no se ha documentado si la exposición crónica a benceno, disolvente que se sabe induce cambios a nivel del SNC, pudiera tener efecto a nivel periférico en el sistema gustativo, alterando la percepción de los sabores, con la consecuente disminución en la ingesta de alimento y ganancia de peso de las ratas, por lo cual planteamos la siguiente:

V HIPÓTESIS

La exposición crónica a benceno altera la plasticidad de los corpúsculos gustativos y la percepción del sabor umami en la papila caliciforme de la rata.

VI OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la exposición crónica a benceno sobre la percepción del sabor umami o glutamato monosódico (GMS) en la papila caliciforme de la rata.

VII OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Implementar un modelo de exposición crónica a benceno.
2. Determinar la ingesta de solución de glutamato monosódico (umami) en ratas expuestas crónicamente a benceno.
3. Determinar el efecto de la exposición crónica a benceno sobre el número de corpúsculos gustativos de la papila caliciforme.

VIII MATERIAL Y MÉTODOS

VIII.1. MANEJO DE ANIMALES

Se utilizaron ratas macho adultas de la cepa Wistar de 300 ± 20 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.

VIII.2. EXPOSICIÓN CRÓNICA A BENCENO

Se introdujeron los animales por separado en una cámara de exposición estática sellada herméticamente, que cuenta con un puerto de inyección a través del cual se administró un volumen determinado de benceno, equivalente a 6,000 ppm., el cual se evaporó y se homogeneizó por ventilación durante 30 minutos. Después de 6 horas se realizó una segunda exposición con el método antes mencionado. Dichas exposiciones se llevaron a cabo diariamente por un periodo de 8 semanas por grupo experimental. Las ratas control, de manera paralela, también se trataron con el método anterior con la única diferencia de que fueron expuestas solamente a aire, esto con el fin de que tanto las ratas control como las expuestas a benceno estuvieran sometidas al mismo estrés.

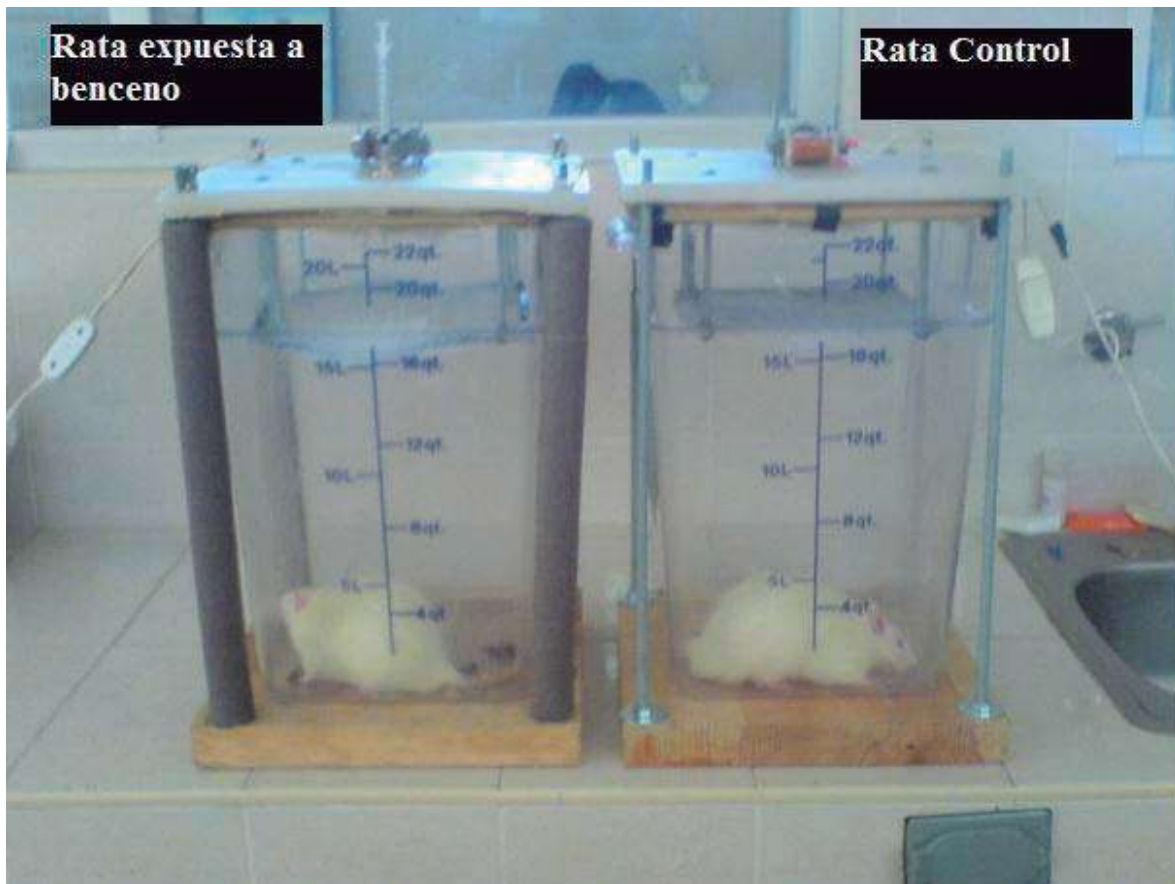


Figura 19. Cámaras de exposición estática, donde se muestra una rata expuesta a benceno y una rata control.

VIII.2.1 DETERMINACION DEL VOLUMEN DE BENCENO ADMINISTRADO

Para la determinación del volumen de benceno utilizamos la siguiente fórmula:

$$V = (PM)(ppm)(VS)(P)(1 \cdot 10^{-6}) / (d)(R)(T)$$

Donde:

PM = Peso molecular del benceno (78.11382g/mol)

ppm = Partes por millón deseadas (6000)

VS = Volumen del contenedor de la cámara de exposición (22.75 Lt)

P = Presión atmosférica (1 atm)

d = Densidad relativa del benceno (0.879 g/cm³)

R = Constante de los gases ideales (0.08205 Lt*atm/K*mol)

T = Temperatura ambiente en K. (298)

Sustitución:

$$V = \frac{(78.11382\text{g/mol})(6000)(22.75\text{Lt})(1\text{ atm})(1 \cdot 10^{-6})}{(0.879\text{g/cm}^3)(0.08205\text{Lt*atm/K*mol})(298\text{ K})} = \frac{10.6625}{21.4923} = \underline{0.4961\text{cm}^3}$$

Que es equivalente a 0.4961ml ~ **0.5ml** de benceno administrado.

VIII.3. PRUEBA DE LA INGESTA DE SOLUCION DE UMAMI

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 benceno, se colocaron sobre la jaula dos botellas, la primera con solución de glutamato 120 mM y la segunda botella con agua, con 300 ml de glutamato y 300ml de 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.

VIII.4. TÉCNICA DE INMUNOHISTOQUÍMICA

A las 8 semanas de exposición con benceno las ratas fueron sacrificadas mediante desnucación cervical, se extrajo la lengua y se diseco la papila caliciforme, la cual se incluyó en solución de paraformaldehído al 4% y posteriormente se incluyo en soluciones de sacarosa al 10, 20 y 30% durante 24 hs respectivamente. La papila caliciforme se corto en un criostato con tamaños de cortes 16 micras y posteriormente se procedió a teñirla mediante la técnica de hematoxilina-eosina. Los cortes fueron observados en un microscopio óptico para realizar el conteo de los corpúsculos gustativos.

VIII.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se determinó la media y la desviación estándar de los resultados; para ver si los datos son diferentes estadísticamente se empleo la prueba de “t de student.” Los gráficos se realizaron con el programa Grad Pad Prism versión 5.0.

IX RESULTADOS

En la figura 20 se muestra el peso de las ratas durante las 8 semanas de la exposición al benceno. Se puede observar que las ratas expuestas disminuyeron su peso en forma estadísticamente significativa comparado con el grupo control.

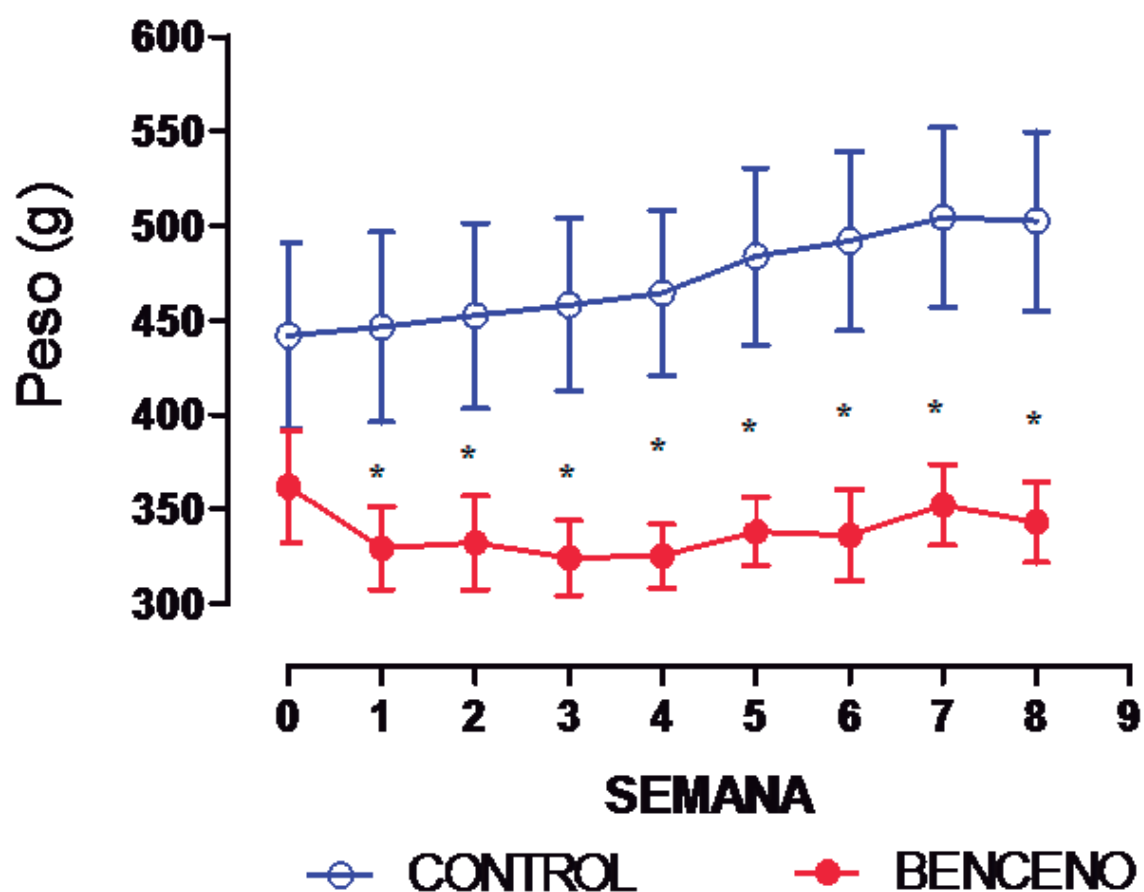


Figura 20. Peso corporal de las ratas. $X \pm D.E.$ de seis ratas de cada grupo durante las 8 semanas de exposición crónica con benceno. * $p < 0.05$ vs. Control.

En la figura 21 se muestra el consumo de alimento, se puede observar que a partir de la primera semana las ratas del grupo expuesto al benceno disminuyen su consumo de alimento en forma estadísticamente significativa comparado con el grupo control.

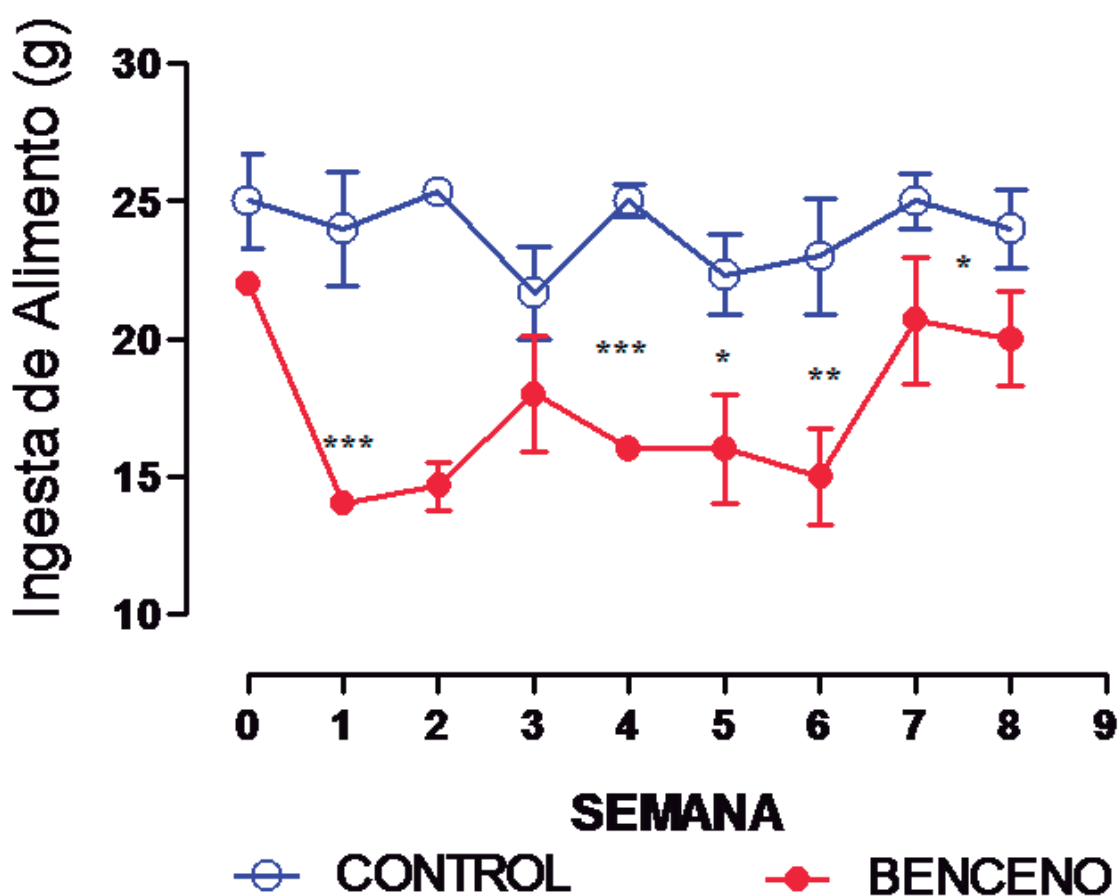


Figura 21. Consumo de alimento durante las 8 semanas de exposición con benceno. $\bar{X} \pm D.E.$ de 6 ratas cada grupo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.0001$ vs. Control.

En la figura 22 se muestra el porcentaje de ingesta de solución de glutamato durante las 8 semanas de exposición a benceno. Se aprecia que desde el tiempo de inicio las ratas del grupo expuesto a benceno consumieron mayor cantidad de solución de glutamato que las del grupo control.

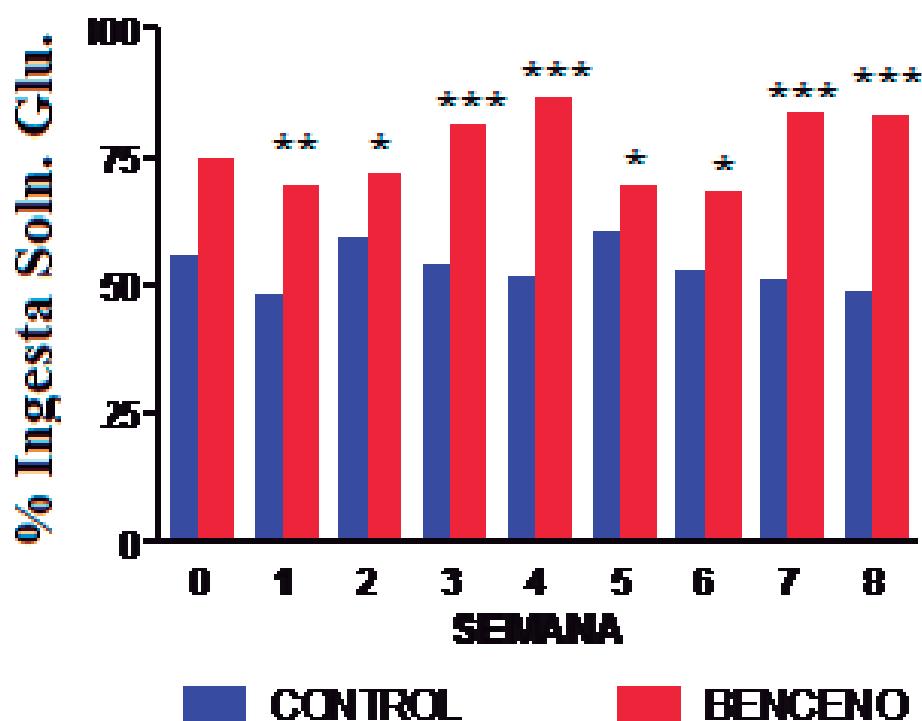


Figura 22. Porcentaje de la solución de glutamato monosódico durante las 8 semanas de exposición a benceno. $\bar{X} \pm D.E.$ de 6 ratas cada grupo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$ vs. Grupo control.

En la figura 23 se muestra el número de corpúsculos gustativos de la papila caliciforme a las 8 semanas de exposición al benceno. Se puede apreciar que existe una disminución del número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme de las ratas expuestas al benceno con respecto a su grupo control.

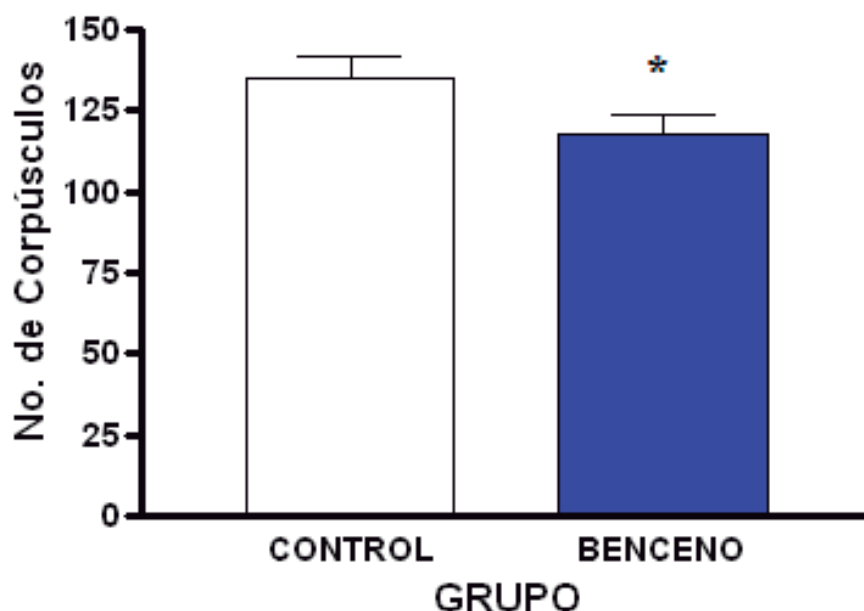


Figura 23. Numero de corpúsculos gustativos a las 8 semanas de exposición al benceno. $X \pm D.E.$ de 6 ratas por cada grupo.

Las figuras 24-26 muestran las fotomicrografías de la papila caliciforme de las ratas del grupo control (A) y del grupo tratado con benceno (B), a diferentes ampliaciones, 10X (figura 24), 40X (figura 25) y 100X (figura 26). Se puede apreciar que la papila caliciforme del grupo expuesto al benceno contiene menor número de corpúsculos gustativos (24 B) con respecto al grupo control (24A) en la ampliación de 10X. A 40X se observan irregularidades en la trinchera de la papila caliciforme del grupo expuesto al benceno (25B) comparado con el control (25A). En la figura (26B) se puede apreciar que la densidad de las células que conforman el corpúsculo gustativo es menor que en el grupo control (26A).

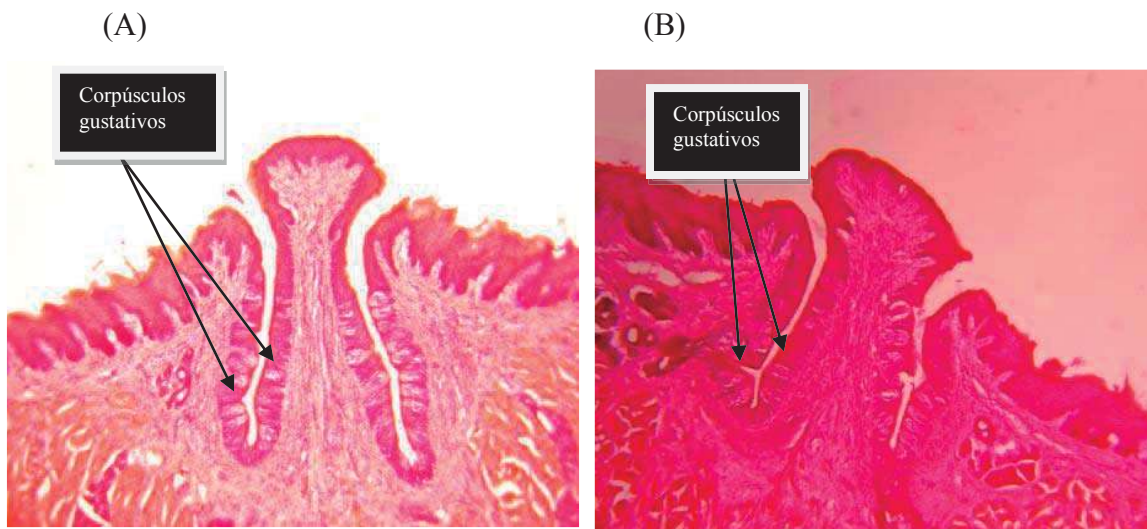


Figura 24. Fotomicrografías de la papila caliciforme de ratas del grupo control (A) y del grupo tratado con benceno (B). Objetivo 10 X.

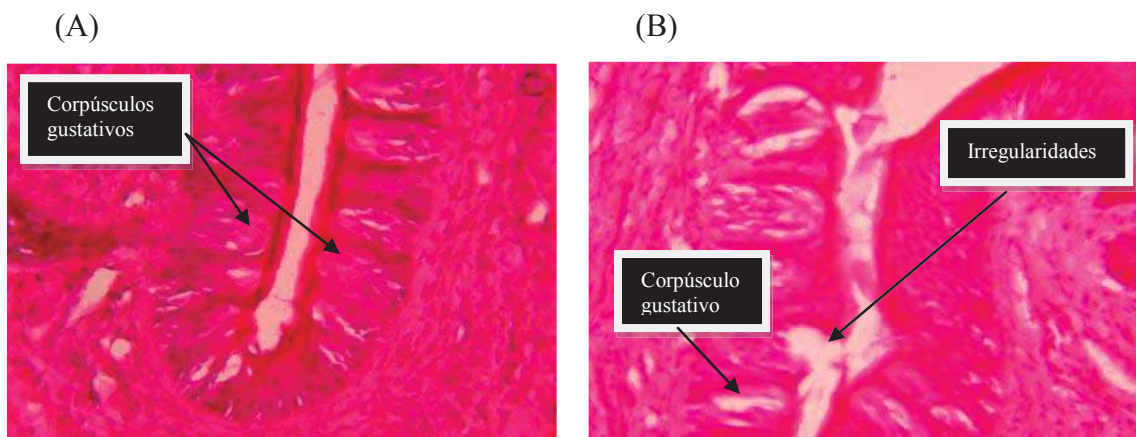


Figura 25. Fotomicrografías de la papila caliciforme de ratas del grupo control (A) y del grupo tratado con benceno (B). Amplificación 40 X.

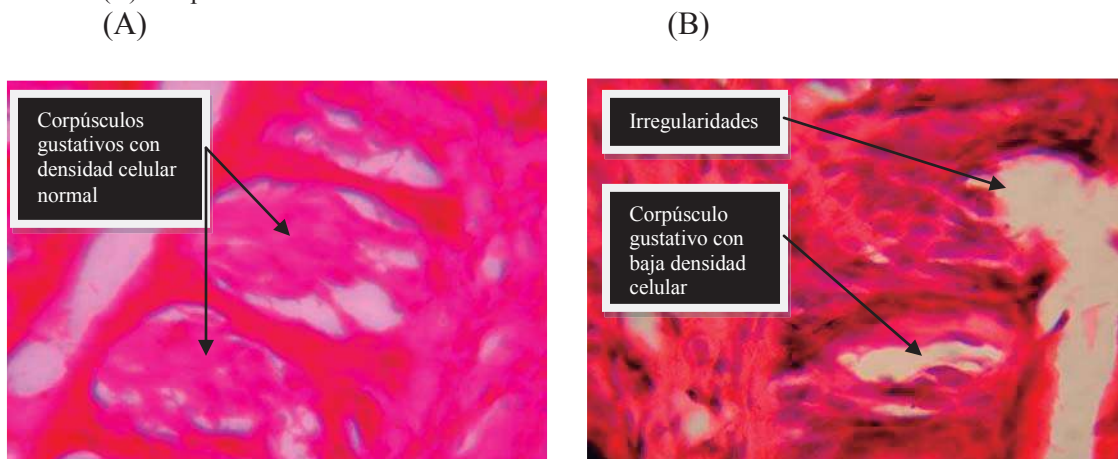


Figura 26. Fotomicrografías de la papila caliciforme de ratas del grupo control (A) y del grupo tratado con benceno (B). Amplificación 100 X.

X DISCUSIÓN:

La exposición crónica a disolventes produce alteraciones neurológicas, tales como neuropatías craneales con afectación de los nervios trigémino y facial (relacionados con la percepción gustativa), encefalopatías, neuropatías periféricas, entre otras (www.drogabuse.gov). Estas alteraciones se relacionan con cambios en la percepción gustativa (Sánchez-Juan y Combarros, 2001), lo que podría explicar la modificación en la conducta alimentaria de las ratas expuestas al benceno y la disminución en el consumo de alimento, esto sugiere que el benceno 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. 20. En este sentido, Morón et al. (2004) observaron que la administración aguda de tolueno i.p. 1.3 ml/kg por día durante 4 días, genera una reducción en la ingesta de alimento y peso corporal de las ratas tratadas, además de involucrar regiones hipotalámicas, relacionando el efecto de anorexia con la administración aguda de altas dosis de tolueno, mostrando así el efecto de un disolvente inhalable de abuso sobre la ingesta de alimento, al igual que lo encontrado en nuestro estudio.

Por otro lado, se ha propuesto que el sistema glutamatérgico participa en la ingesta de alimento, existen evidencias que indican que algunos circuitos involucrados en la conducta alimentaria son elementos glutamatérgicos (Burns y Ritter., 1997). Partiendo de la hipótesis de que el glutamato endógeno participa en el control de la ingesta de alimento, se ha experimentado con MK-801, un antagonista no competitivo de receptores NMDA, encontrándose que después del tratamiento sistémico con MK-801 las ratas no consumieron más alimento que las ratas control, a menos que se hubieran sometido a ayuno. Sin embargo, cuando les ofrecieron algo más agradable al paladar (galletas), las ratas tratadas con MK-801 incrementaron su consumo. Entonces el MK-801 incrementa el consumo de alimentos sólo cuando la comida es agradable al paladar o hay privación de la misma.

Estos resultados apoyan la hipótesis de que el glutamato endógeno juega un papel importante en el control alimentario, ya que al bloquear las funciones de los receptores NMDA por acción del MK-801, se pueden disminuir o retrasar las señales de saciedad al iniciar la conducta alimentaria *per se*.

Otros estudios realizados por Da Silva et al. (2006), encontraron que la administración de MK-801 dentro del área lateral hipotalámica incrementa la ingesta de alimento y su duración, así como también disminuye la latencia para el inicio de la comida. Estos resultados sugieren que el ingreso de elementos glutamatérgicos a células que contienen receptores NMDA y/o AMPA localizados en el área lateral hipotalámica influyen en la conducta alimentaria (Da Silva et al., 2006). Es factible entonces que la disminución en la ingesta de alimento observada en el presente trabajo sea originada por cambios en la actividad de receptores glutamatérgicos por la administración del benceno, y a su vez esto origina la pérdida de peso de las ratas expuestas al benceno.

No obstante, todos estos datos están en contra de los resultados que obtuvimos, ya que la exposición crónica a benceno disminuyó la ingesta de alimento y ocasionó un decremento en el peso de los animales. Sin embargo, se esperaría que el benceno actuara de manera similar al MK-801 por ser también un antagonista de los receptores NMDA *in vitro*. Las discrepancias observadas en nuestro estudio con respecto a las referencias antes mencionadas podrían deberse, por lo tanto, a diferencias en el diseño metodológico y a distintas vías de administración y fármacos empleados, ya que en nuestro trabajo se realizaron experimentos crónicos y en los otros se trata de un tratamiento agudo.

El aumento en el consumo de la solución de glutamato en el grupo de ratas expuestas crónicamente al benceno comparado con las del grupo control, apoya el efecto del benceno en la alteración de la ingesta de alimentos y en un posible cambio en el funcionamiento de los receptores, en este caso de los receptores glutamatérgicos, tanto a nivel central como a nivel periférico en la papila caliciforme, por lo que 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 (GMS).

En cuanto a la morfología de la papila caliciforme, los resultados sugieren que la exposición crónica a benceno disminuye la densidad celular del corpúsculo gustativo y se promueven cambios hipertróficos de la papila caliciforme, lo cual probablemente esté derivado de la alteración en la innervación de la papila caliciforme. Para determinar si efectivamente estos cambios están relacionados 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, este efecto podría estar relacionado con la hipotrofia del nervio periférico; dado que los corpúsculos gustativos se encuentran en constante recambio o regeneración cada 10 - 12 días, probablemente este recambio no se efectuó, ya que las células que promueven el recambio están disminuidas, tal como se aprecia en la fotomicrografías.

XI CONCLUSIONES

Nuestros resultados sugieren que la inhalación crónica de benceno causa alteraciones conductuales y alimenticias en las ratas y que esto podría deberse a cambios en receptores del tipo NMDA a nivel del SNC y/o en el número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme de la rata.

XII REFERENCIAS

- Abbot A., Neurobiological perspectives on drugs of abuse. *Trends Pharmacol Sci*, 13: 169, 1992.
- Ackerman BH., Kasbekar N: Disturbances of taste and smell induced by drugs. *Pharmacotherapy* 1997; 17: 482-496.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 2005. *Reseña Toxicológica del Benceno*. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU., Servicio de Salud Pública. CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO
- Aistrup GL., Marszalec W., Narahashi T: Ethanol modulation of nicotinic acetylcholine receptor currents in cultured cortical neurons. *Mol Pharmacol*, 55: 39-49, 1999.
- Akabas MH., Dodd J., Al-Awqati Q: A bitter substance induces a rise in intracellular calcium in a subpopulation of rat taste cells. *Science* 242: 1047-1050. 1988.
- Allan AM., Harris RA: Gamma-aminobutyric acid and alcohol actions: neurochemical studies of long sleep and short sleep mice. *Life Sci*, 39: 2005-2015, 1986.
- Aston-Jones GS., Siggins GR: Electrophysiology. En: *Psychopharmacology the Fourth Generation of Progress*. Bloom FE, Kupfer DJ (eds). Raven Press, Nueva York, 1995.
- Avenet P., Hofmann F., Lindemann B: Transduction in taste receptor cells requires. cAMP – dependent protein kinase. *Nature* 331: 351-354. 1988.
- Ayres PH., Taylor DW: *Solvents en: Principles and Methods of Toxicology*, Segunda Edición. Hayes W (ed). Raven Pres, Lid., Nueva York, 1989.
- Bale AS., Smothers CT., Woodward JJ: Inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by the abused solvent, toluene. *Br J Pharmacol*, 137: 375-383, 2002.
- Beckstead MJ., Weiner JL., Eger., 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.
- Burns GA., Ritter RC: The non- competitive NMDA antagonist MK-801 increases food intake in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* Jan;56(1):145-9, 1997.
- Burton DJ., Routh JL., *Química organica y Bioquímica*. Ed Mc Graw- Hill Interamericana de México. pp. 89-94. 1977.
- Bushnell PJ., Peele DB: Conditioned flavor aversion induced by inhaled p-xylene in rats. *Neurotoxicol Teratol.* Nov-Dec10(6):585, 1988.
- Celentano JJ., Gibbs TT., Farb DH: Ethanol potentiates GABA- and glycine-induced chloride currents in chick spinal cord neurons. *Brain Res*, 455: 377-380, 1988.
- Charles S. Zuker y Howard Hydles., 2006., Medical Institute (<http://www.hhml.org/news/pdf/zuker4-esp.pdf>)
- Combarros O: Alteraciones del olfato, el gusto y la audición. En: Rodés J, Guardia J, editores. *Medicina interna* (Tomo I). Barcelona: Masson, 369-371. 1997.
- Covarrubias M., Vyas TB, Escobar L, Wei A: Alcohols inhibit a cloned potassium channel at a discrete saturable site. *J Biol Chem*, 270: 19408-19416, 1995.
- Cruz SL., Mirshahi T., Thomas B., Balster RL., Woodward JJ: Effects of the abuse 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 the volatile solvents on recombinant N-Methyl-D-Aspartate and non N-Methyl-D-Aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Br J Pharmacol*, 131: 1303-1308, 2000.
- Cummings TA., Kinnamon SC: Chemosensory transduction mechanisms in taste. *Ann Rev Physiol* 54: 715-731. 1992.

Da Silva AA., Campanella LC., Ramos MC., Faria MS., Paschoalini MA., Mariano-Neto J: Ingestive effect of NMDA and AMPA-kainate receptor antagonist microinjections into the lateral hypothalamus of the pigeon (*Columba livia*). *Brain Res.* 2006 Oct 18;1115 (1):75-82. Epub 2006 Aug 21.

Diaz-Cintra S., Cintra L., Kemper T., Morgan PJ., Resnick O: raphe dorsalis: amorphometric Golgi study in rats of three age groups nucleus brain res. 207: 1-16. 1981

Dinwiddie A., Myhre O., Fonnum F., Abuse of inhalants: a review. *Addiction*, 89: 925-939, 1994.

Doty RL., Kimmelman CP., Lesser RP: Smell and taste and their disorders. En: Asbury AK, Mckhann GM, Mc Donald WI, editors. *Diseases of the nervous system: clinical neurobiology* (2ª ed.). Filadelfia: WB Saunders Company; 390-403. 1992.

Dreiem A., Myhre O., Fonnum F: Relationship between lipophilicity of C6-C10 hydrocarbon solvents and their ROS-inducing potency in rat cerebellar granule cells. *Neurotoxicology*, 23: 701-709, 2002.

Dudel J: General sensory physiology En: *Human physiology*. Schmidt R, Thews G (eds.). Springer-Verlag. Heidelberg New York. pp 177-192. 1987.

Eric Conn E., Stumpf PK: *Bioquímica Fundamental*. Ed Limusa Noriega. pp 43-47. 1991.

Evans EB., Balster RL: CNS. Depressant effects of volatile organic solvents. *Neurosci Biobehav Rev*, 15: 233-241, 1991.

Finelli PF., Mair RG: Disturbances of taste and smell. En: Bradley WG., Daroff RB., Fenichel GM., Marsden CD., editors. *Neurology in clinical practice*. Boston: Butterworth-Heinemann; 263-269. 2000.

Flanagan RJ: Volatile solvent abuse. *Bull Narcotics* 46: 49-78, 1994.

Gauthereau MY., et al. Inhibition of cardiac sodium currents by toluene exposure, *Br. J. Pharmacol.* 140 (2003) 653-660.

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.

Gilbertson TA., Avenet PA., Kinnamon SC., Roper SD: Proton currents through amiloride- sensitive Na⁺ channels in hamster taste cells: role in acid transduction. *J Gen Physiol* 100: 803-824. 1992.

Gilbertson TA., Roper SD., Kinnamon SC: Proton currents through amiloride-sensitive Na⁺ channels in isolated hamster taste cells: enhancement by vasopressin and cAMP. *Neuron* 10: 931-942. 1993.

Gillespie BR., Burns GA., Ritter RC: NMDA channels control meal size via central vagal afferent terminals. *Pharmacol Biochem Behav.* Jan; 56(1): 145-149, 1997.

Grant R., Ferguson MM., Strang R., Turner JW: Bone I. Evoked taste threshold in a normal population and the application of electrogustometry to trigeminal nerve disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*; 50; 12-21. 1987.

Heck GL., Mierson S., Desimone JA: SALT taste transduction occurs through an amiloride-sensitive sodium transport pathway. *Science* 223: 403-405. 1984.

<http://www.inhalants.drugabuse.gov>

<http://www.bibliotecadigital.ilce.edu>

<http://www.mex.ops-oms.org/documentos/publicaciones/haciaa11.pdf>

Abuso de sustancias inhalables. Un problema de salud pública y social.

María Teresa Griselda Fuentes Lara, Araceli Hernández González

<http://www.textoscientificos.com/quimica/benceno/obtencion>

<http://www.estrucplan.com.ar/Producciones/entrega.asp?IdEntrega=298>

(Centro Nacional de Condiciones del Trabajo)

<http://www.diseñomultimedia.com>

<http://www.astdr.cdc.gov/es> (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades)

<http://www.arsxixi.com/pfw.files/cima/ArticulosR/Neurobiologia/2001/06/109060102620271.pdf>

<http://www.cienciadigital.es/hemeroteca/reportaje.php?id=9>

<http://www.uv.es/ramo/quimio/gustovert.pdf>

Hwang PM., Verma A., Bredt DS., Zinder SH: Localization of phosphatidylinositol signalling components in rat taste cells: Role in bitter taste transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 7395-7399. 1990.

John Holm R: Principios de Fisicoquímica, Química Orgánica y Bioquímica. México. Ed. Limusa Noriega. pp. 328-333. 1990.

Johnson BA., Ait-Daoud N: Neuropharmacological treatments for alcoholism: scientific basis and clinical findings. *Psychopharmacology*, 149: 327-344, 2000.

Kim M., Mistretta CM: 4-Aminopyridine depresses KCl taste responses recorded from rat chorda tympani nerve. *Soc. Neurosci Abstr.* 12:1351. 1986.

Kim DJ., Delay RJ., Roper SD: Merkel-like basal cells in amphibian taste buds are homologous with type III cells in mammalian taste buds. *Soc Neurosci Abstr.* 19:1428. 1993.

Kinnamon JC., Sherman TA., Roper SD: Ultrastructure of mouse vallate taste buds: III. Patterns of synaptic connectivity. *J Comp Neurol* 270: 1-10. 1988.

Kinnamon SC., Roper SD: Evidence for a role of voltage-sensitive K⁺ channels in sour and salt taste transduction. *Chem Senses* 13: 115-121. 1988.

Kinnamon SC: Taste transduction: a diversity of mechanisms. *Trends in Neurosci* 11: 491-496. 1988.

Kozel N., Sloboda Z., De la Rosa M., (eds): Epidemiology of inhalant Abuse: An International Perspective. NIDA Res. Monograph series No 148. Department of Health and Human Services, Rockville, 1995.

Kumazawa T., Teeter JH., Brand JG: L proline activated cation channels in isolated catfish taste epithelial membranes. *Chem Senses* 15: 603-604. 1990.

Kurihara K., Koyama N: High activity of adenylyl cyclase in olfactory and gustatory organs. *Biochem Biophys Acta* 288: 22-26. 1972.

Li X., et al: Human receptors for sweet and umami taste. *Proc Natl Acad Sci USA.* 99:4692-4696. 2002.

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.

Lovinger DM., White G., Weight FF: Ethanol inhibits NMDA- activated ion current in hippocampal neurons. *Science*, 243: 1721-1724, 1989.

Lovinger DM: Ethanol potentiates ion current mediated by 5-HT₃ receptors on neuroblastoma cells and isolated neurons. *Alcohol Alcohol Suppl*, 1: 181-185, 1991.

Ma W., Shaffer KM., Pancrazio JJ., Shughnessy 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.

Mc Laughlin SK, Mc Kinnon PJ, Margolske RF, 1992. Gustducin in a taste-cell-specific G protein closely related to the transducins. *Nature* 357: 563-569.

Meza Ruiz G: Neurobiología de los sentidos sensoriales. Cap. 1. Sofia Diaz Cintra, Azucena Aguilar y León Cintra. pp. 3-17. 1995.

Meza Ruiz G: Neurobiología de los sentidos sensoriales. Cap. 9. Mecanismos de transducción en la célula gustativa. Sue C Kinnamon. pp. 149-163. 1995.

Meza Ruiz G: Neurobiología de los sentidos sensoriales. Cap. 11. Respuestas gustativas y control alimentario. Thomas R. Scout, Laurence J. Nolan, Barbara K. Giza y Carlos R-Plata-Salamán pp. 199-206. 1995.

Miyagawa M., Honma T., Sato M., Hasegawa H: Conditioned taste aversion induced by toluene administration in rats. *Neurobehav Toxicol Teratol.* Jan-Feb; 6(1): 33-37, 1984.

Morón L., Pascual J., Portillo MP., Casis L., Maraculla MT., Abecia LC., Echevarria E: Toluene alters appetite, NPY, and galanin immunostaining in the rat hypothalamus. *Neurotoxicol Teratol.* Mar-Apr; 26(2):195-200. 2004.

Müller J: Beiträge zur vergleichenden physiologie des gesichtsinnes. Leipzig Knoblock. pp 46. 1826.

Myhre O., Fonnum F: The effect of aliphatic, naphthenic, and aromatic hydrocarbons on production of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in rat brain synaptosome fraction: the involvement of calcium, nitric oxide synthase, mitochondria, and phospholipase A. *Biochem Pharmacol*, 62: 119-128, 2001.

Nelson G., et al: An amino-acid taste receptor. *Nature* 416:199–202. 2002.

Nestler EJ, Hyman SE., Malenka RC., (eds) Reinforcement and addictive disorders. En: *Molecular Neuropharmacology. A Foundation for Clinical Neuroscience.* McGraw-Hill Co, 355-382, 2001.

National Institute on Drug Abuse (NIDA): Inhalant Abuse En: <http://www.nida.nih.gov/ResearchReports/Inhalants>, 1999.

Paéz-Martínez N., Lopez-Rubalcava C., Silvia Cruz L: Avances recientes en la investigación de los mecanismos celulares de acción de los disolventes de abuso. *Salud Mental*, Vol. 26; No.5, 43-50, 2003.

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.

Reilly Ce: L- glutamate receptor identified as taste receptor of umami. *J Neurol* 2000; 247: 402-403.

Riegel AC., French ED: An electrophysiological analysis of rat ventral tegmental dopamine neuronal activity during acute toluene exposure. *Pharmacol Toxicol*, 85: 37-43, 1999.

Robert Thornton Morrison y Robert Neilson Boyd. Química orgánica, quinta edición, México. Ed. PEARSON Addison Wesley. pp. 469-473. 1998.

Sánchez-Juan P, Combarros O. Síndromes lesionales de las vías nerviosas gustativas. *Neurología*, 16: 262-271. 2001.

Sherrington CS: The integrative action of the nervous system. Sillimar memorial lectures, Yale Univ. Press. New Haven: Contable London. 1906.

Shiffman SS: taste and smell in disease (parts I and II). *N Engl J Med*; 308: 1275-1278 y 1337-1342. 1983.

Soriano Mas C., Guillazo Blanch G., Torras García M., Fundamentos de Neurobiología, UOC; 2: 137-143. 2007.

Stengard K., Hoglund G., Ungerstedt U: Extracellular dopamine levels within the striatum increase during inhalation exposure to toluene. A microdialysis study in awake, freely moving rats. *Toxicol Lett*, 71: 245-255, 1994.

Wang X., Lemos JR., Dayanithi G., Nordmann JJ., Treistman SN., Ethanol reduces vasopressin release by inhibiting calcium currents in nerve terminals. *Brain Res*, 551: 339-341, 1991.

Wang X., Wang G., Lemos JR., Treistman SN: Ethanol directly modulates gating of dihydropyridine-sensitive Ca^{2+} channel in neurohypophyseal terminals. *J Neurosci*, 14: 5453-5460, 1994.

Weber EH: Der tast sinn und das gemernde fühl. En: Wagner R. (ed) *Handwörterbuch der physiologie.* Braunschweig. Viewig. Vol III. pp. 481-588. 1846.

Yamaguchi, S., Ninomiya, K: Umami and food palatability, *J. Nutr.*, 130: 921S-926S. 2000.

Zuker CS., Chandrasekar J., Hoon MA., Ryba NJ: The receptors and cells for mammalian taste. *Nature* 444:288–294. 2006.