



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

---



**FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**

**“INTERACCIÓN DE LA BOMBA DE SODIO Y POTASIO –SEROTONINA EN  
EL CEREBELO DE RATAS EXPUESTAS A SOLVENTES INHALABLES DE  
ABUSO”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTA**

**PABLO CAMPOS PEÑA**

**ASESOR**

**D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO**

TESIS PARCIALMENTE APOYADA POR  
CIC 26.2 (2011).

**MORELIA MICHOACÁN**

**MAYO DEL 2011**

## **DEDICATORIA**

**A mis Padres y Hermanos les dedico este trabajo, ya que en todo momento me apoyaron en todos los sentidos, y además forman una parte fundamental en mi vida.**

## **AGRADECIMIENTOS:**

**A DIOS, a mi familia, a mi Asesor D.C. Rosalio Mercado Camargo por darme la oportunidad de formar parte del laboratorio de Neurobiología y gracias a él conocer la Investigación.**

**A mis sinodales Q.F.B. Armida Sánchez gallegos, Q.F.B. Judith Prieto Sierra y Dra. Carmen Bartolomé Camacho.**

**A mis compañeros y de laboratorio Blanca Juárez, Gustavo Nava, Angélica Salgado, Cesar Adrián, Susana Bautista, Jaime Chávez y Luis Prado les agradezco por formar esta parte muy importante en mi vida, además por todos ustedes siento un profundo respeto y una gran admiración, ya que son personas que se superan día a día y son un ejemplo a seguir.**

<b>I.- INDICE</b> -----	<b>4</b>
<b>II.- LISTA DE ABREVIATURAS</b> -----	<b>5-7</b>
<b>III.- ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS</b> -----	<b>8-9</b>
<b>IV.- RESUMEN</b> -----	<b>10</b>
<b>V.- INTRODUCCIÓN</b> -----	<b>11-32</b>
<b>V.1 Sistema Nervioso</b>	
<b>V.1.1 Sistema nervioso periférico</b>	
<b>V.1.2 Sistema nervioso Central</b>	
<b>V.1.3 Unidad funcional del Sistema Nervioso</b>	
<b>V.1.4 Transmisión nerviosa</b>	
<b>V.1.5 Neurotransmisores</b>	
<b>V.2 Sistema serotoninérgico</b>	
<b>V.2.1 Biosíntesis de la Serotonina</b>	
<b>V.2.2 Receptores serotoninérgicos Funciones de la serotonina y receptores</b>	
<b>Serotoninérgicos</b>	
<b>V.3 Bomba de sodio y potasio</b>	
<b>V.4 Solventes inhalables de abuso</b>	
<b>VI.- JUSTIFICACIÓN</b> -----	<b>33-34</b>
<b>VII.- HIPÓTESIS</b> -----	<b>34</b>
<b>VIII.- OBJETIVO GENERAL</b> -----	<b>34</b>
<b>IX.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> -----	<b>34</b>
<b>X.- MATERIAL Y MÉTODOS</b> -----	<b>35-37</b>
<b>XI.- RESULTADOS</b> -----	<b>38-43</b>
<b>XII.- DISCUSIÓN</b> -----	<b>44-45</b>
<b>XIII.- CONCLUSIONES</b> -----	<b>46</b>
<b>XIV.- REFERENCIAS</b> -----	<b>47-49</b>

## II. LISTA DE ABREVIATURAS

m.....	Metro
mV.....	Milivolts
ms.....	Milisegundos
SNC.....	Sistema Nervioso Central
Nm.....	Nanometros
IP3.....	Inositol trifosfato
cAMP.....	Adenosin Monofosfato cíclico
Ca <sup>+</sup> .....	Calcio
K <sup>+</sup> .....	Potasio
Na <sup>+</sup> .....	Sodio
μM.....	Micromoles
5-HT.....	5 hidroxitriptamina
GABA.....	Acido Gama-amino-Butírico
NO.....	Oxido Nítrico
MAO.....	Monoamino oxidasa
5-H1AA.....	Acido 5-Hidroxi-indol-Acético
Tph.....	Triptófano hidroxilasa
AC.....	Adenilato ciclasa
FLC.....	Fosfolipasa C
8-OH-DPAT.....	8-hidroxi-(2-N,N-dipropilamino)-tetralina

<b>Mg</b> .....	<b>Miligramo</b>
<b>Kg</b> .....	<b>Kilogramo</b>
<b>LD<sub>50</sub></b> .....	<b>Dosis letal 50</b>
<b>min</b> .....	<b>minuto</b>
<b>h</b> .....	<b>Hora</b>
<b>m<sup>3</sup></b> .....	<b>Metro cúbico</b>
<b>ppm</b> .....	<b>Partes por millón</b>
<b>ATP</b> .....	<b>Adenosin Trifosfato</b>
<b>ATPasa</b> .....	<b>Adenosin trifosfato hidroxilasa</b>
<b>Mg</b> .....	<b>Magnesio</b>
<b>ADP</b> .....	<b>Adenosin difosfato</b>
<b>NE</b> .....	<b>Norepinefrina</b>
<b>L-Trp</b> .....	<b>L-Triptófano</b>
<b>5-HTTP</b> .....	<b>5- Hidroxitriptófano</b>
<b>g</b> .....	<b>Gramo</b>
<b>Fig</b> .....	<b>Figura</b>
<b>HCl</b> .....	<b>Acido clorhídrico</b>
<b>mM</b> .....	<b>Milimoles</b>
<b>pH</b> .....	<b>Potencial de iones Hidrógeno</b>
<b>µg</b> .....	<b>Microgramo</b>
<b>µl</b> .....	<b>Microlitro</b>
<b>NaCl</b> .....	<b>Cloruro de sodio</b>

**TCA.....Acido tricloroacético**

**N.....Normalidad**

**M.....Molar**

**D.E<sub>50</sub>.....Dosis efectiva 50**

**D.E.....Desviación estándar**

**Log.....Logaritmo**

**A.E.....Actividad Específica**

**Pi.....Fosfato inorgánico**

**Prot.....Proteína**

### III. INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Fig. 1 Representación esquemática de la división del sistema nervioso.....	12
Fig. 2 División del encéfalo.....	14
Fig. 3 Estructura e inervación de la médula espinal.....	15
Fig. 4 Representación esquemática de la unidad funcional del sistema nervioso.....	21
Fig. 5 Esquema que representa la sinapsis eléctrica.....	23
Fig. 6 Esquema que representa la sinapsis química.....	23
Fig. 7 Núcleos de Rafe.....	26
Fig. 8 Células Enterocromafines.....	26
Fig. 9 Síntesis y metabolismo de 5HT.....	27
Fig. 10 Estructura del complejo enzimático mostrando sus sitios de unión y función principal.....	29
Fig. 11 estructura del Tolueno.....	30
Fig. 12 Estructura del Benceno.....	32
Fig. 13 Estructura del Xileno.....	33
Fig. 14 Ratas macho de la cepa Wistar Porton.....	37
Fig. 15 Baño metabólico Dubnoff.....	39
Fig. 16 Actividad de la $Na^+/K^+$ -ATPasa en homogeneizado de cerebelo.....	40
Fig. 17. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la 5-HT en homogeneizado de cerebelo.....	41
Fig. 18. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la $\alpha$ -Metil-5-HT en homogeneizado de cerebelo.....	42
Fig. 19. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la Espiperona en homogeneizado de cerebelo.....	43
Fig. 20. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la Ciproheptadina en homogeneizado de cerebelo.....	44
Fig. 21. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la Ritanserina en homogeneizado de cerebelo.....	45
Tabla. 1 neurotransmisores.....	25
Tabla 2.- D.E.50 de las curvas dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la serotonina en homogeneizado de cerebelo.....	41
Tabla III.- D.E50 de la curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio al $\alpha$ -Metil-5-HT en homogeneizado de cerebelo.....	42
La tabla IV.- D.E.50 del efecto de la espiperona sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en homogeneizado de	



cerebelo.....43

Tabla V.- D.E.50 del efecto de la ciproheptadina sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en homogeneizado de cerebelo de ratas macho adultas.....44

Tabla VI.- D.E.50 del efecto de la ritanserina sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en homogeneizado de cerebelo.....45

#### IV. RESUMEN

La exposición a Tolueno, Benceno y Xileno de forma crónica causa diferentes alteraciones en el organismo y por ende a la conducta produciendo un estado alterado de conciencia. Los órganos que se dañan por la exposición a solventes son el cerebro, riñón, hígado y corazón. Los mecanismos por los cuales se altera el sistema nervioso no está bien dilucidados y por lo tanto realizamos el presente estudio sobre el efecto de éstos solventes en la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en presencia de agonistas y antagonistas serotoninérgicos, ya que se ha visto que la serotonina incrementa la actividad de la bomba de sodio y potasio en el sistema nervioso central. En el presente trabajo se utilizó un modelo de exposición crónica a solventes inhalables de abuso en ratas macho adultas con solventes orgánicos como Tolueno, Benceno y Xileno, y en el cerebelo de éstas ratas se determino la actividad de la bomba de sodio y potasio y se realizaron curvas dosis-respuesta con serotonina y agonistas y antagonistas serotoninérgicos. Los resultados muestran disminución de la actividad de la enzima en el grupo expuesto a los solventes inhalables de abuso. Los antagonistas serotoninérgicos mostraron efecto de agonismo inverso. Estos resultados corroboran la relación entre la bomba de sodio y potasio con el sistema serotoninérgico y muestran que la exposición a solventes inhalables de abuso afectan la actividad del sistema enzimático de la bomba de sodio y potasio.

## V. INTRODUCCION

### V.1 SISTEMA NERVIOSO

El sistema nervioso es el sistema por el cual se percibe el medio ambiente, e interactuamos con nuestro entorno, generando conductas específicas, ya que el medio que conocemos es creado en el cerebro a partir de nuestros sentidos: vista, oído, olfato, gusto, tacto, dolor, y la sensación de los movimientos corporales, claro sin olvidar que otra función muy importante es la de administrar los recursos energéticos de los que dispone el organismo para fomentar comportamientos basados en la economía de su supervivencia, y en base a esto emergen comportamientos que promueven lo que nosotros denominamos “bienestar” pero que el organismo sencillamente observa como la acción menos costosa que le permite continuar viviendo su presente.

El sistema nervioso se divide anatómicamente en sistema nervioso central (SNC) integrado por el encéfalo y la médula espinal (Fig. 1) y sistema nervioso periférico (SNP) que consta de 12 pares craneales que funcionalmente son análogos a los 31 pares de nervios espinales. A su vez, surge una división no anatómica, más bien funcional del sistema nervioso periférico que se divide en autónomo y somático.

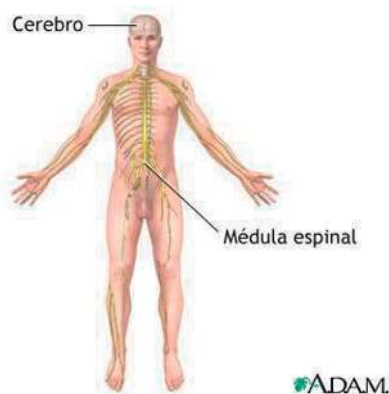


Fig. 1 Representación esquemática de la división del sistema nervioso. (Tomada de

<http://www.umm.edu/graphics/images/es/9693.jpg>

### V.1.1 SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO

El sistema nervioso periférico es un conjunto de neuronas y ganglios que se extienden a los órganos y miembros los cuales no están cubiertos o protegidos por huesos, o por la barrera hematoencefálica característica distinguible al sistema nervioso central, lo cual hace mas vulnerable a este conjunto de neuronas y ganglios a toxinas y daños mecánicos.

**Somático.** Esta formado por un conjunto de neuronas las cuales regulan las funciones voluntarias o conscientes del individuo. Por ejemplo el movimiento muscular o el tacto.

**Autónomo.** Este sistema que es llamado comúnmente como visceral o involuntario, regula principalmente las funciones ajenas a la conciencia del individuo como por ejemplo el movimiento intestinal (peristaltismo) o sensibilidad intestinal. A su vez éste sistema se divide en simpático y parasimpático.

*Parasimpático.* Es un sistema principalmente de reposo, que da prioridad a la activación de las funciones peristálticas y secretorias del aparato digestivo y urinario, también propicia la relajación de los esfínteres para favorecer el desalojo de las excretas y de la orina. También fomenta la broncoconstricción y secreción respiratoria, así como también provoca la vasodilatación para distribuir el riego sanguíneo y favorecer la excitación sexual. Produce miosis acoplado al ojo para la visión próxima. Este sistema inhibe el comportamiento de la huida disminuyendo la fuerza cardiaca por lo tanto su frecuencia. Este sistema inerva la mayor parte del cuerpo por medio del nervio vago.

*Simpático.* Es un sistema que da prioridad a la aceleración y fuerza cardiaca, estimula la piloerección y sudoración. Facilita la activación del sistema somático, provoca la broncodilatación facilitando la respiración, propicia la vasoconstricción redirigiendo la sangre a los músculos, corazón y sistema nervioso, provoca la midriasis así como estimula las glándulas suprarrenales para la síntesis y descarga adrenérgica. Este sistema inhibe las condiciones de

reposos (peristaltismo) y aumenta el tono de los esfínteres para evitar la salida de excretas y orina, en machos provoca la excitabilidad mediante la eyaculación.

### V.1.2 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Este sistema como ya se dijo antes origina conductas, las cuales están mediadas por siete componentes del sistema nervioso que son la médula espinal y el encéfalo. El encéfalo consta de 6 regiones, cada una de las cuales se subdivide en varias áreas diferenciadas desde el punto de vista anatómico y funcional, éstas seis regiones son: bulbo raquídeo, protuberancia, cerebelo, mesencéfalo, diencefalo y hemisferios cerebrales o telencéfalo, cada una de estas regiones se encuentran a ambos lados del encéfalo pero pueden diferir en su tamaño y forma (figura 2).

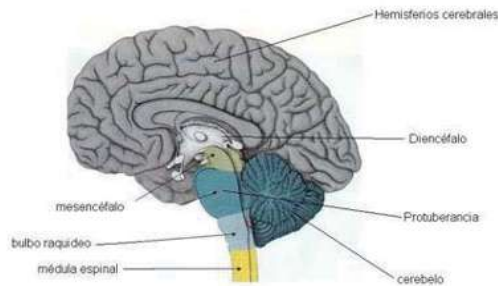


Fig. 2 División del encéfalo (tomada de [http://www.sistemanervoso.com/images/anatomia/crbl\\_i\\_01.jpg](http://www.sistemanervoso.com/images/anatomia/crbl_i_01.jpg))

### Medula espinal

Se extiende desde la base del cráneo hasta la primera vértebra lumbar recibe información a través de neuronas sensitivas y motoras de la piel, articulaciones, músculos, tronco y extremidades.

La médula espinal varía en tamaño y forma a lo largo de su trayectoria, se divide en sustancia gris y sustancia blanca que la rodea, la sustancia gris contiene los grupos neuronales, se divide normalmente en astas posteriores y

anteriores (porque tiene forma de H), el asta posterior contiene una disposición ordenada de neuronas sensitivas de relevo que recibe información de la periferia, mientras que el asta anterior contiene núcleos motores que inervan músculos específicos. La sustancia blanca esta constituida por vías longitudinales de axones mielínicos que forman las vías ascendentes a través de las cuales la información sensitiva llega al encéfalo, así como también las vías descendentes portadoras de órdenes motoras, y las influencias reguladoras procedentes del mismo. Las fibras nerviosas que conectan a la médula espinal con los músculos y receptores sensitivos de la piel están agrupados en 31 pares de nervios raquídeos, cada uno de los cuales posee una división sensitiva, que surge de la parte dorsal de la médula (raíz dorsal), la cual lleva la información sensitiva de la piel y los músculos hacia la médula espinal, la sensibilidad dolorosa y táctil son transmitidas por diferentes axones que discurren por las raíces dorsales recibiendo información sensitiva de los órganos internos (Fig. 3). Las raíces ventrales son haces de axones de las neuronas motoras que salen de la médula espinal e inervan los músculos y en ciertos niveles de la médula espinal comprenden también axones simpáticos y parasimpáticos, que constituyen la vía final común, se le llama así porque todos los niveles superiores del encéfalo que controlan las vías motoras terminan por actuar necesariamente a través de éstas neuronas, del asta anterior y sus conexiones a los músculos (figura 3).

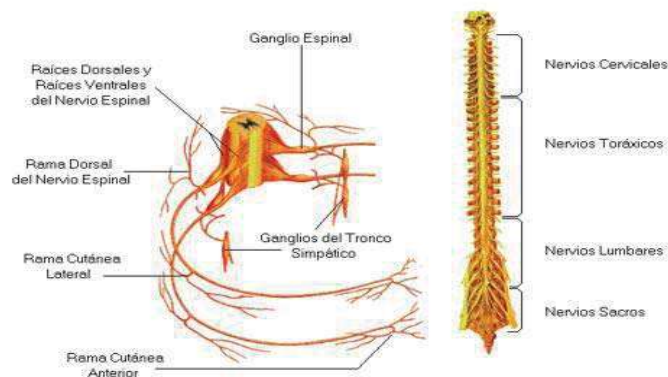


Fig. 3 Estructura e inervación de la médula espinal  
<http://www.lalupa3.webcindario.com/biologia/imagenes/medula.gif>

## **Tronco encefálico**

El bulbo raquídeo, la protuberancia y el mesencéfalo componen al tronco encefálico, el cual contiene grupos diferenciados de células nerviosas que contribuyen a diversos sistemas sensitivos y motores. La aferencia sensitiva y eferencia motora del tronco encefálico son transmitidas por 12 pares craneales son: I olfatorio, II óptico, III motor ocular común, IV patético, V trigémino, VI motor ocular externo, VII facial, VIII auditivo, IX glossofaríngeo, X vago, XI espinal, XII hipogloso. Que funcionalmente son análogos a los 31 nervios raquídeos donde la médula espinal es mediadora de la sensibilidad y control motor del tronco, mientras que el tronco encefálico se ocupa de la sensibilidad y control motor de la cabeza, cara y cuello, al igual que es la entrada de sentidos especiales como: oído, equilibrio y gusto así como también regular reflejos parasimpáticos, como la disminución del gasto cardiaco y la presión arterial, el aumento del peristaltismo del tubo digestivo y la contracción de las pupilas.

### *Bulbo raquídeo*

Esta ubicado en la extensión rostral de la médula espinal y parece participar en la organización y función donde hay grupos neuronales que participan en la regulación de la presión arterial y la respiración donde también hay grupos neuronales que participan en el gusto, oído y mantenimiento del equilibrio así como el control de la musculatura del cuello y la cara.

### *Protuberancia*

Ubicada rostralmente al bulbo raquídeo y forma una prominencia en la superficie ventral la cual contiene un gran número de grupos neuronales en los que hace relevo la información sobre el movimiento y la sensibilidad transmitida desde la corteza cerebral al cerebelo y la porción dorsal de la protuberancia contiene estructuras que participan en la respiración gusto y sueño.

### *Mesencéfalo*

Mantiene una posición rostral a la protuberancia donde sus neuronas establecen vínculos importantes entre los componentes de los sistemas motores, en especial el cerebelo, los ganglios basales y los hemisferios cerebrales. Por ejemplo la sustancia negra un núcleo diferenciado del mesencéfalo el cual proporciona aferencias importantes a una porción de los ganglios basales que regula los movimientos voluntarios. Este es de un interés particular ya que sus neuronas dopaminérgicas están dañadas en la enfermedad del Parkinson. Finalmente esta parte del mesencéfalo contiene componentes de los sistemas auditivo y visual, y varias regiones de éste están conectadas con los músculos oculares extrínsecos, y son la vía principal del control de los movimientos oculares.

### **Diencéfalo**

Contiene 2 sub divisiones importantes: el Tálamo y el Hipotálamo

*Tálamo.* Es esencial en la transferencia de la información sensitiva (diferente de la olfatoria). Desde de los receptores periféricos a las regiones del procesamiento sensitivo de los hemisferios cerebrales y desempeña un papel de control de entrada y modulador en la transmisión de la información sensitiva, en otras palabras el tálamo determina si la información sensitiva alcanza la conciencia en la neocorteza. También participa en la integración de la información motora del cerebelo y los ganglios basales, y transmite esa información en los hemisferios cerebrales que se ocupan del movimiento.

*Hipotálamo.* Esta ubicado ventral al tálamo y regula conductas esenciales para la homeostasis y la reproducción. Por ejemplo comer, beber, crecimiento y la conducta maternal regulando las secreciones de la hipófisis. Influye también en la conducta por su amplia red de conexiones aferentes y eferentes con prácticamente la totalidad del SNC. Es un componente esencial del sistema de motivación del cerebro, iniciando y manteniendo conductas que el organismo encuentra gratificadoras. Una parte del Hipotálamo es el núcleo



supraquiasmático que regula los ciclos circadianos arrastrados por el ciclo de la luz-oscuridad diarios.

### **Hemisferios cerebrales**

Es la región más grande del encéfalo, está formada por la corteza cerebral, sustancia blanca subyacente, ganglios basales, núcleo amigdalino y formación del hipocampo a los últimos tres los cuales se les llama estructuras profundas. Los hemisferios cerebrales se ocupan de funciones perceptivas, motoras y cognitivas incluidas la memoria y la emoción. Los hemisferios están conectados por un conjunto de fibras llamado cuerpo calloso que es visible en la cara medial de los hemisferios, es la mayor de las comisuras. El núcleo amigdalino está relacionado con la conducta social y la experiencia de las emociones, el hipocampo con la memoria y los ganglios basales con el control de los movimientos finos.

El sistema nervioso central está gobernado por diferentes sistemas funcionales que se llevan a cabo en varias regiones del encéfalo desempeñando diversas tareas, los componentes de éstos sistemas funcionales se les denomina *repetidores* término que puede inducir a confusión. Se llamas así porque están conectados en serie desplazando la información en etapas en las cuales la información experimenta transformaciones, pero no se modifica, rara vez la salida de una etapa de un sistema funcional es igual a la entrada y tal vez no pueda llevarse a cabo dependiendo de la neurona postsináptica que reciba la señalización, la salida de ésta señalización esta en función de la suma de todas las señales recibidas en la neurona postsináptica. Un ejemplo de esto es que en varios sistemas sensitivos los receptores de la periferia se proyectan hacia una o más regiones de la médula espinal, después al tronco encefálico, posteriormente al tálamo, este a su vez a las cortezas sensitivas primarias teniendo proyecciones hacia otras regiones de la corteza cerebral. Cada componente del encéfalo tiene una organización que está representada topográficamente a través de sucesivas etapas, por ejemplo grupos de células de la retina se proyectan a grupos de células contiguas en la porción visual del

tálamo, que a su vez se proyectan hacia regiones vecinas en la corteza visual, éste ordenamiento se lleva en los sistemas sensitivos creando así una superficie receptiva, que se retiene en los sucesivos niveles del encéfalo, reflejando también la densidad de los mismos, ya que el grado de sensibilidad está en función del grado de inervación. Por ejemplo, la región central de la retina, la fovea, posee la mayor densidad de receptores, y por ello logra la mayor agudeza visual. En correspondencia a ello, el área de la corteza visual destinada a la información procedente de la fovea, es mayor que la que representa la retina periférica, donde la densidad de los receptores y la agudeza visual es menor. Siendo así también el sistema motor, ya que éste no representa por igual cada parte del cuerpo. La extensión de la representación de cada parte del cuerpo refleja la densidad de la inervación de esa parte y por lo tanto la finura del control necesario para sus movimientos. Los sistemas funcionales están organizados de tal manera que el funcionamiento de unas neuronas depende de otras “en jerarquía”. Por ejemplo en el sistema visual cada neurona del cuerpo geniculado lateral (en el interior del tálamo) responde a un punto de luz en una determinada región del campo visual. Los axones de varias neuronas talámicas vecinas convergen sobre células de la corteza visual primaria, donde cada célula sólo se activa cuando esta activada una configuración determinada. A su vez las células de la corteza visual primaria convergen sobre células individuales de la corteza de asociación, respondiendo de una manera más selectiva a la información, por ejemplo cuando una barra de luz se mueve en una determinada dirección.

Una característica importante del SNC es que las fibras nerviosas cruzan el lado opuesto (contralateralmente) resultando que el lado izquierdo del cuerpo está regido por el lado derecho del cerebro y viceversa, esto surge a distintos niveles del encéfalo. Por ejemplo las vías ascendentes del dolor cruzan al lado opuesto en la médula espina, casi inmediatamente después de penetrar en el sistema nervioso central.

## **Cerebelo**

Ubicado sobre la protuberancia es el que contiene el mayor número de neuronas que cualquier otra subdivisión del tronco encefálico, incluidos los hemisferios cerebrales, sin embargo sus tipos neuronales son relativamente escasos, lo que hace que sus circuitos sean bien conocidos. El cerebelo de mamíferos está formado por dos hemisferios cerebelosos, unidos por una estrecha franja denominada vermis, presenta también multitud de circunvoluciones con una sustancia blanca en el interior constituida por fibras nerviosas y una sustancia gris en el exterior, donde se concentran somas neuronales, y que se denomina corteza cerebelosa. En porción ventral al cerebelo se encuentra el IV ventrículo y los plexos coroideos, éstos últimos implicados en la síntesis de líquido cefalorraquídeo, también al cerebelo pertenecen los núcleos profundos situados en la posición más ventral de la sustancia blanca. El cerebelo recibe aferencias somatosensoriales de la médula espinal, información motora de la corteza cerebral y aferencias sobre el equilibrio procedente de los órganos vestibulares del oído interno. Es importante para mantener el equilibrio y para coordinar los movimientos de la cabeza, los ojos, así como también el ajuste fino de los movimientos musculares y el aprendizaje de las habilidades motoras. Disfunciones en éste órgano provocan alteraciones en el equilibrio, en el tono muscular, incoordinación de movimientos etc. pero en estudios recientes de imagen funcional han revelado su participación en funciones cognitivas como el lenguaje.

### **V.1.3 UNIDAD FUNCIONAL DEL SISTEMA NERVIOSO:**

El sistema nervioso está constituido por dos tipos principales de células, la neurona y la glía.

Las neuronas son por las cuales el cerebro realiza la señalización y de ésta manera ordena, procesa, analiza y modula las diferentes funciones y conductas en el ser humano (Figura 4).

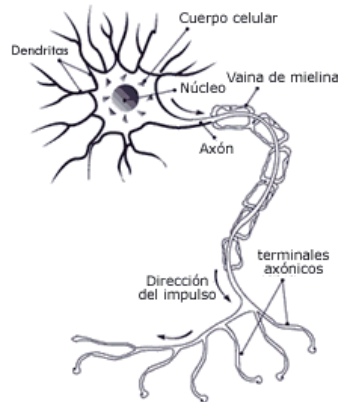


Fig. 4 Representación esquemática de la unidad funcional del sistema nervioso (tomada de <http://www.ikerjimenez.com/noticias/descubren-un-tipo-de-neuronas-viajeras/index.html>)

Las neuronas presentan características morfológicas altamente diferenciadas de las demás células por las cuales realizan su función y son cuerpo celular o soma, una o varias prolongaciones cortas, que generalmente transmiten impulsos al cuerpo celular denominadas dendritas, y una porción larga denominada axón por la cual transporta la señalización a la célula postsináptica u órgano diana.

Las células gliales se dividen en macro glías y las micro glías, y tienen al menos 7 funciones dentro del SNC y periférico que serían:

- 1.- Dan soporte y estructura al encéfalo sosteniendo a las neuronas.
- 2.- Generan un tipo de aislante (la mielina) que recubre el cono axonal de ésta manera haciendo posible la conducción del impulso nervioso de cada neurona oligodendrocitos en el SNC y células de Schwann en el periférico.
- 3.- Algunas de éstas producen fagocitos para eliminar detritos tras las lesiones impidiendo la muerte celular.
- 4.- Realizan la limpieza captando neurotransmisores que son producidos y eliminados de las neuronas con esto favoreciendo la señalización neuronal.
- 5.- Durante el desarrollo algunas glías (glía radial) dirigen a las

neuronas y el crecimiento de los axones.

6.- Regulan activamente las propiedades pre sinápticas de las neuronas como es el caso de la señalización nervio-músculo.

7.- Forman el revestimiento de impermeable de los capilares y vénulas del encéfalo (barrera hematoencefálica).

8- Algunas liberan factores de crecimiento y ayudan a nutrir a las neuronas, como también ayudan a mantener la concentración de  $K^+$  extracelular producido por las neuronas cuando se descarga un potencial de acción.

#### V.1.4 TRANSMISIÓN NERVIOSA

La transmisión de las señales nerviosas se realiza a través de la comunicación de las neuronas con sus órganos efectores mediante sinápsis o contactos sinápticos, las cuales son de dos tipos:

*Sinapsis eléctrica:* Este tipo de sinapsis se realiza a través de canales comunicantes que ponen en contacto el citoplasma de las células pre y post sinápticas por donde pasa la corriente (iones), generada por un cambio en el potencial de reposo de la célula pre sináptica (figura 5).

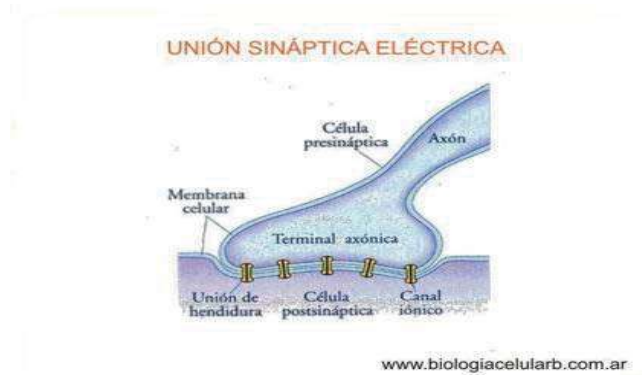


Fig. 5 Esquema que representa la sinapsis eléctrica (tomada de Biologiadelarbol.com.ar)

*La sinapsis química:* Se lleva a cabo con moléculas regularmente de bajo peso molecular y algunos péptidos, a los cuales se les llama neurotransmisores, que son segregados al espacio sináptico por un mecanismo llamado exocitosis generados por un cambio en el potencial de reposo membranar de las neuronas presinapticas a través de vesículas, interactuando con receptores específicos postsinapticos generando la apertura de canales iónicos, generando o no cambios en el potencial de membrana postsinaptico. A diferencia de la sinapsis eléctrica, las neuronas que participan en la sinapsis química esta separadas por la hendidura sináptica de aproximadamente 20 a 40 nm entre el botón terminal axonal de la neurona presinaptica y las dendritas postsinapticas o somas neuronales, incluso axones (figura 6).

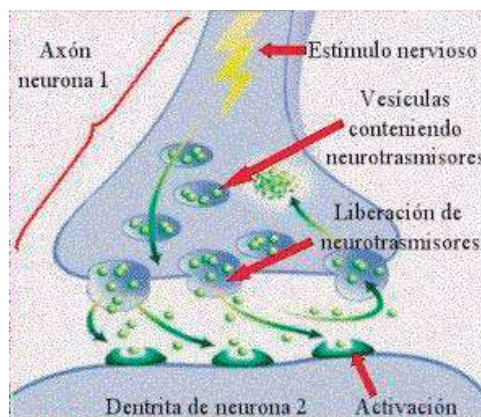


Fig. 6 Esquema que representa la sinapsis química  
(tomada de <http://cienciascognitivas.blogspot.com/2005/04/sinapsis.html>)

### V.1.5 NEUROTRANSMISORES:

Como ya se mencionó antes son moléculas de bajo peso molecular, pero también se ha visto que participan algunos péptidos. Las moléculas de bajo peso molecular deben de cumplir con 4 características fundamentales para que se consideren neurotransmisores.

- 1.- se deben sintetizar en la neurona.
  
- 2.- Se debe de liberar por la neurona presináptica en cantidades suficientes para ejercer una acción determinada en la neurona postsináptica u órgano efector.
  
- 3.- Con su administración endógena como fármaco en cantidades razonables imita exactamente la acción del neurotransmisor, debe de activar exactamente los mismos canales iónicos o segundos mensajeros según sea la naturaleza del transmisor.
  
- 4.- Debe de existir un mecanismo para su eliminación tanto del receptor específico y de la hendidura sináptica.

Estas moléculas son altamente específicas a los receptores, que pueden ser ionotrópicos (que están directamente unidos al canal que se activa) y metabotrópicos (que por mecanismos bioquímicos, segundos mensajeros activan indirectamente a ciertos canales). Un neurotransmisor puede activar distintos receptores y con ello permitir la apertura de canales, lo cual lleva a una variedad de activación con un pequeño número de transmisores.

En general se admiten nueve sustancias de bajo peso molecular que se consideran como neurotransmisores, ocho de ellas son aminas y siete son aminoácidos o sus derivados, la novena es el ATP o sus metabolitos. Y son: Acetilcolina, Dopamina, Noradrenalina, Adrenalina, Serotonina, Histamina, Glutamato, ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA), ATP y adenosina (Tabla 1).

<b>Neurotransmisores en el SNC</b>	
<b>Moléculas pequeñas</b>	<b>Péptidos</b>
<b>Aminoácidos</b>	<b>Péptidos opiáceos</b>
$\gamma$ -aminobutirato (GABA)	$\beta$ -endorfina
Glicina	Dinorfina
Glutamato	Metionina
Aspartato	<b>Péptidos neurohipofisarios</b>
Taurina	Vesopresina
<b>Aminas biógenas</b>	Oxitocina
Acetilcolina	<b>Taquicíninas</b>
Dopamina	Sustancia P
Noradrenalina	Casina
Adrenalina	Neurocinina
Serotonina	<b>Otros</b>
Histamina	Secretina
<b>Nucleótidos</b>	Péptido Intestinal Vasoactivo
Adenosina	Glucagón
ATP	Neuropéptido Y
<b>Otros</b>	Somatostatina
Óxido nítrico	Colecistoquinina
Monóxido de carbono	Angiotensina

Tabla. 1 neurotransmisores ([http://cienciacompartida.files.wordpress.com/2010/03/tabla1-neurotransmisores\\_400.jpg&imgrefurl=http://](http://cienciacompartida.files.wordpress.com/2010/03/tabla1-neurotransmisores_400.jpg&imgrefurl=http://))

## V.2 SISTEMA SEROTONINERGICO.

La serotonina (5-HT, 5-OH-Triptamina) se aisló por primera vez en el año de 1948 por Rapport, et. al., (1948) de la clínica de Cleveland. Fue inicialmente identificada como una sustancia vasoconstrictora en el plasma sanguíneo o (*serum*) de ahí su nombre de serotonina, aunque después fue identificada químicamente como (5 Hidroxi-triptamina), y desde entonces se le ha asociado una amplia gama de funciones fisiológicas tanto en el (SNC) como en el (SNP), en el sistema nervioso central tiene diferentes funciones dependiendo de las estructuras en las cuales se va a proyectar y el tipo de receptores serotoninérgicos presentes en esas estructuras con los que va a interactuar, ya que existen numerosos receptores para la serotonina que difieren en su localización y que se clasifican desde la familia 5HT1 hasta la 5HT7 y a partir de ésta división se subdividen asignando una letra por cada familia, el conocimiento de éstos receptores es fundamental para el desarrollo de fármacos agonistas y antagonistas interaccionando con cada receptor.

La (5-HT) se sintetiza en los núcleos del Rafe (Fig. 7) y en la mucosa del tubo digestivo (Fig. 8), específicamente en las células enterocromafines en la



región del duodeno, se encuentra en otras células como en los mastocitos y en las plaquetas de los mamíferos, esta sustancia también se encuentra en algunas setas y plantas incluyendo frutas y vegetales.

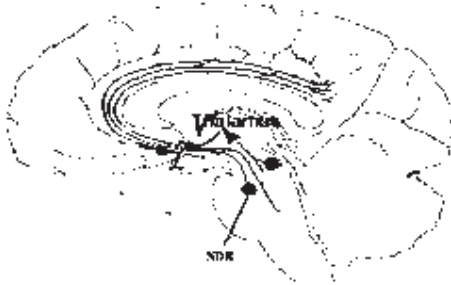


Fig. 7 Núcleos de Rafe

[http://www.puc.cl/sw\\_educ/neurociencias/esquemas/096.gif&imgrefurl](http://www.puc.cl/sw_educ/neurociencias/esquemas/096.gif&imgrefurl)

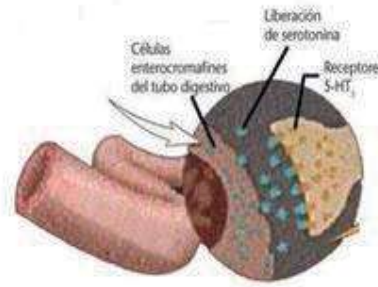


Fig. 8 Células Enterocromafines

<http://www.dfarmacia.com/ficheros/imagenes>

### V.2.1 BIOSÍNTESIS DE LA SEROTONINA

La serotonina (5-hidroxitriptamina o 5HT) perteneciente a la familia de los indoles ya que cuenta con un anillo de 5 miembros en uno de los cuales contiene nitrógeno, es un neurotransmisor de bajo peso molecular que biosintéticamente proviene del aminoácido esencial triptófano de la dieta. Se sintetiza en una vía metabólica que involucra la participación de dos enzimas: la triptófano hidroxilasa (TPH) hidroxilando la molécula requiriendo oxígeno molecular y factor de pteridina reducido originando así 5-Hidroxitriptófano (Figura. 9) a esta etapa de la primera reacción se le denomina primera etapa siendo ésta etapa la limitante de la reacción (Hernández, 1973) la segunda etapa consiste en la posterior descarboxilación la cual es catalizada por la enzima 5-hidroxitriptófano descarboxilasa (5-TPH) originando de ésta manera a la 5-Hidroxitriptamina o serotonina. La 5-HT es metabolizada por la acción de la enzima monoaminoxidasa (MAO) convirtiéndola en 5-Hidroxi-indolacético, para después por una enzima omnipresente la deshidrogenasa de aldehído

convirtiéndola en ácido 5-Hidroxiindolacético el cual es desechado por la orina.

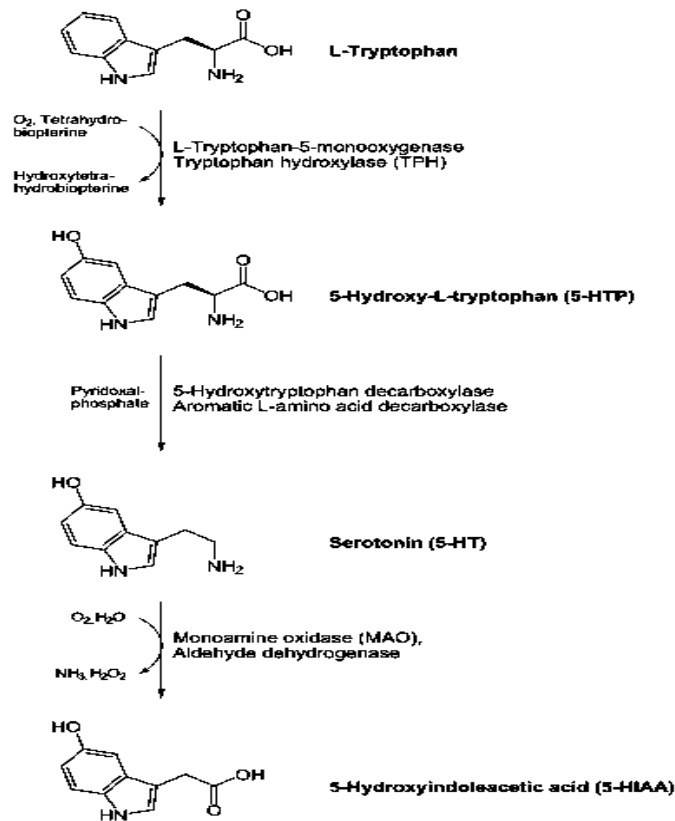


Fig. 9 Síntesis y metabolismo de 5HT (<http://es.wikipedia.org/wiki/Serotonina>)

### V.2.2 Funciones de la serotonina y receptores serotoninérgicos

La serotonina actúa en el cerebro como neurotransmisor, y participa en la integración y control del comportamiento psicoemocional interviniendo en el control de la función de la Hipófisis (producción hormonal), en la regulación de la temperatura, en el sueño, en la memoria, en el aprendizaje (Hernández, 1987) incluyendo la conducta sexual y alucinógena, en la percepción del dolor, está relacionada con la migraña y algunos estados psicóticos. A nivel periférico tiene efectos en la musculatura lisa tanto del sistema respiratorio como del sistema gastrointestinal y el cardiovascular (movilidad del tracto gastrointestinal

y presión de la sangre), y por último en la patología del tumor carcinoide.

Como ya se mencionó anteriormente la interacción de la serotonina sobre los receptores serotoninérgicos es responsable de numerosas acciones tanto a nivel periférico como central. Se han localizado hasta la fecha siete familias de receptores (5HT<sub>1</sub>, 5HT<sub>2</sub>, 5HT<sub>3</sub>, 5HT<sub>4</sub>, 5HT<sub>5</sub>, 5HT<sub>6</sub>, 5HT<sub>7</sub>) en particular la familia del receptor 5HT<sub>2</sub> esta constituida por tres subtipos de receptores: el 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, y el 5-HT<sub>2C</sub>, los cuales se localizan en varias estructuras cerebrales incluido el cerebelo como ya se mencionó entre las funciones que tiene la serotonina es la de regular la actividad de la bomba de sodio y potasio motivo del presente trabajo.

### **V.3. BOMBA DE SODIO Y POTASIO (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa, Adenosin-5-Trifosfatasa)**

Es un sistema enzimático capaz de transportar Na<sup>+</sup> intracelular y K<sup>+</sup> extracelular a través de la membrana plasmática en una estequiometría de 3:2 respectivamente a expensas de una molécula de ATP en el intercambio iónico (Caldwell et al., 1960; Robinson and Flashner, 1979) manteniendo concentraciones bajas de Na<sup>+</sup> en el interior (unas 10 veces menor que el exterior) y una gran concentración de K<sup>+</sup> en el interior (unas 20 veces mayor que en el exterior). Este intercambio iónico es de suma importancia en la célula, ya que restablece el potencial de reposo membranal recobrando la actividad eléctrica, manteniendo el volumen celular. Como la actividad de la bomba de sodio y potasio sólo se observa en su mayoría en las células gliales y estas a su vez realizan trabajos de "limpieza" en las diferentes áreas del cerebro, entonces la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa esta relacionada en la captura de metabolitos (Rossier et al., 1987); y la posibilidad de neurotransmisores (Tissari et al., 1969). Este sistema enzimático esta formado por un tetrámero de péptidos ensamblados: dos pequeños (35-57 kDa) y dos subunidades largas (90-135 kDa) (Kyte, 1972; Jorgensen, 1982) ahora conocidas como  $\alpha$  y  $\beta$  respectivamente. Esta estructura se extiende en la membrana de la célula, con la porción hidrofílica en el espacio extracelular y en el citoplasma. Existen

varios reportes que indican varios sitios funcionales específicos de éste complejo enzimático, en la parte externa posee sitios para el  $K^+$  y la ouabaina (un inhibidor cardiotónico), y en la porción citoplásmica tiene los sitios de unión para el  $Na^+$  y el ATP (figura 10).

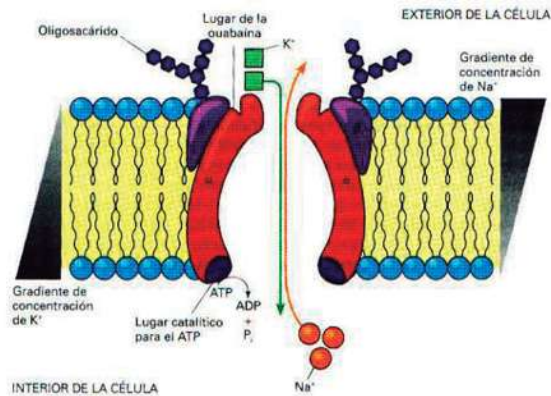


Fig. 10 Estructura del complejo enzimático mostrando sus sitios de unión y función principal  
(tomada de <http://www.google.com/imgres?imgurl>)

La interacción del complejo enzimático ATPasa  $Na^+/K^+$  con diferentes sustancias ha sido demostrado a partir de la década de 1980, especialmente con sustancias hormonales y con algunos neurotransmisores. Aunque todavía no se sabe sobre el mecanismo por el cual estas diferentes sustancias estimulan la actividad de la bomba de sodio y potasio en la glía neuronal se han realizado numerosos estudios en los cuales se ha demostrado que no son las únicas sustancias que modulan la actividad de éste complejo enzimático sino que participan otras como por ejemplo solventes orgánicos tolueno, xileno, benceno.

#### V.4 SOLVENTES INHALABLES DE ABUSO

Los inhalables de abuso se absorben rápidamente a través del aparato respiratorio por la amplia superficie pulmonar pasando directamente a la sangre. Debido a su alto poder liposoluble atraviesan con facilidad la barrera hematoencefálica de esta manera interaccionando con el sistema nervioso central.

Clínicamente los solventes inhalables presentan una similitud con el alcohol en cuanto a la toxicidad, ya que presentan estimulación desinhibición seguida de depresión en dosis altas. Crónicamente provoca complicaciones más severas como pérdida de peso, debilidad muscular, desorientación general, problemas de atención, falta de coordinación y neuropatías. Estos tipos de intoxicación afecta otros órganos como el corazón, riñones, hígado y pulmones.

Entre los solventes inhalables de abuso se tiene el tolueno, benceno y xileno

### **Tolueno**

O metilbenceno, extraído por Henri Etienne Sainte-Claire Deville mediante destilación seca, es una sustancia que proviene del árbol de Myroxylon, existe también en el petróleo crudo, esta presente en varias mezclas industriales principalmente como diluyente: pinturas, pegamentos, caucho, resinas y como antidetonante para combustibles (Figura 11).

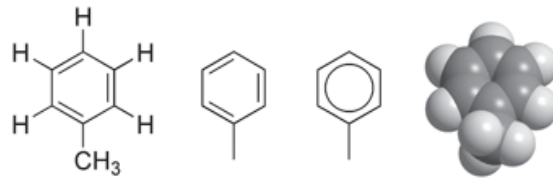


Fig. 11 estructura del Tolueno ([www.cienciaytrabajo.cl/pdfs/26/pagina%20172.pdf](http://www.cienciaytrabajo.cl/pdfs/26/pagina%20172.pdf))

Es un líquido incoloro, con olor aromático característico (agradable), soluble 0.515Kg/m<sup>3</sup> en agua.

En cuanto a su toxicidad por ingestión es de LD50 = 0.5 a 5 g/Kg. Sus vapores son irritantes a membranas y mucosas del tracto respiratorio superior (nariz, garganta etc.), es narcótico a elevadas concentraciones. Una vez inhalada esta sustancia una parte de esta es eliminada por la respiración y el resto es oxidado, dando ácido benzoico, que luego de conjugarse en el hígado es excretado en la orina como ácido hipúrico, sus principales efectos en el cerebro son degeneración de la sustancia blanca, demencias, anosmia, espasticidad, y ataxia cerebral permanente, produce una disminución de la acción moduladora de las descargas que se dirigen a los receptores musculares, y de la

integración de reacciones estatocinéticas provocando distorsión de la información sensorial sobre los mecanismos reflejos cerebelosos en el laberinto (máculas del otrículo y sáculo) que se estimulan con los cambios de cabeza y cuerpo en el espacio, con la gravedad y la aceleración lineal, dando origen a reflejos laberínticos estáticos tónicocervicales.

Se han reportado estudios que indican que este tipo de disolventes (Tolueno, Benceno,) inhiben los receptores NMDA, siendo no así para los no-NMDA, por ejemplo el tolueno aumenta la función de los receptores GABA<sub>A</sub>, Glicina y 5HT<sub>3</sub> demostrando que estos solventes tienen un mecanismo de acción que involucra diferentes sistemas de neurotransmisión.

Estos compuestos, (depresores del SNC), tienen efectos subjetivos similares. Esto concuerda con el hecho de que estas sustancias modulan al receptor GABA, aumentando la neurotransmisión inhibitoria en el Sistema Nervioso. Además, en los estudios con modelos *in vivo* se ha encontrado que, a pesar de la similitud estructural que guardan algunos disolventes presentan diferentes efectos conductuales, lo cual sugiere, que existen diversos requisitos estructurales específicos para interactuar con sus sitios de unión (Lara y col. 1998).

### **Benceno.**

El benceno es un líquido incoloro de olor característico que fue descubierto en 1825 por Faraday. Es buen disolvente de lacas, barnices, ceras, resinas, plásticos, hules y aceites. Por último, también es utilizado como aditivo de la gasolina. Sin embargo, debido a su gran toxicidad, en la actualidad, solo se utiliza cuando no existe un sustituto adecuado. El tolueno es uno de los disolventes que pueden utilizarse como alternativa. Soluble en 1430 partes de agua o 1780 mg/ml (a 20 °C), miscible en etanol, cloroformo, éter, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono, ácido acético glacial, acetona y aceites (Figura 12).

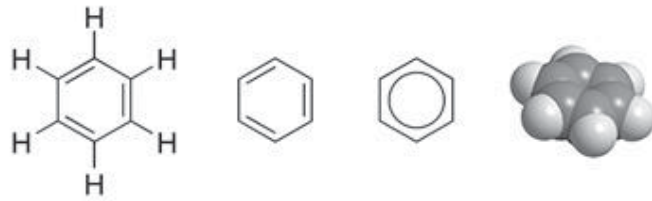


Fig. 12 Estructura del Benceno ([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/67/Benzene\\_structure.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/67/Benzene_structure.png))

Es una sustancia tóxica que puede generar problemas muy graves a la salud. Se sabe que exposiciones constantes o prolongadas a este compuesto, pueden generar daños severos a los componentes de la sangre e incluso, leucemia.

Inhalación.- A concentraciones bajas en el hombre irrita los ojos, así como también las mucosas de la nariz y de la tráquea, a exposiciones prolongadas afecta al sistema nervioso central provocando cansancio dolor de cabeza, posteriores convulsiones, depresión y excitación incluso la muerte por paro respiratorio. Si la concentración es de 7500 ppm a una exposición de 30 minutos se produce la narcosis y la muerte, en este caso se informa que la muerte fue por aplasia de la médula ósea, necrosis y degradación de grasas del hígado y del corazón. La inhalación de pequeñas cantidades del líquido provocan inmediatamente edema y hemorragia pulmonar si la exposición es constante a una concentración de 50 ppm puede presentarse una disminución de células rojas y plaquetas.

### **Xileno**

También llamado dimetilbenceno, es un líquido incoloro inflamable con un olor característico parecido al tolueno insoluble en agua, soluble en alcohol, éter y otros compuestos orgánicos.

Es una sustancia que por inhalación es un depresor del sistema nervioso central, produce irritación de las vías respiratorias, náuseas, pérdida de consciencia y vómito, además se absorbe por la piel presentando narcosis. A efectos prolongados produce cefalea, insomnio, agitación, temblores, pérdida de la concentración y de la memoria a corto plazo (figura 13).

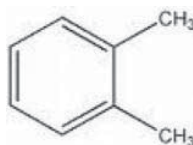


Fig. 13 Estructura del Xileno (<http://blopinion.com/xileno>)

En el hombre aproximadamente el 95 % de la cantidad absorbida se transforma en los ácidos metilhipúricos (isómeros orto-, meta- y para) que se excretan en la orina y solamente el 3% al 6% se excreta inalterado en el aire respirado. Los metabolitos del Xileno se excretan rápidamente, siendo normal encontrar que la cantidad de ácido metil hipúrico excretada alcance un máximo al final del periodo de exposición (Sedivec y Flek, 1967, 1976 a).



## VI.- JUSTIFICACIÓN

Como ya se mencionó anteriormente, existen diversos factores extrínsecos que participan en la regulación de la actividad de la Bomba de Sodio y Potasio como por ejemplo hormonas: insulina actuando posiblemente en la subunidad catalítica alfa principalmente en el tejido muscular y en cerebro (Gavryck et al., 1975; Schmitt y McDonough 1986), y algunos Neurotransmisores entre los más estudiados las catecolaminas principalmente la Norepinefrina (Clausen y Formby, 1967) en membranas sinápticas del cerebro de rata incrementando la actividad de la bomba de sodio y potasio y la serotonina (5-HT) incrementa la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral (Hernández, 1979), así como la administración de agonistas serotoninérgicos como la quipazina, aumentando la actividad también (Hernández, 1982) tales efectos a su vez fueron revertidos por dos antagonistas serotoninérgicos: metisergida y la ciproheptadina, sugiriendo la participación de receptores específicos en la activación de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa, adenosin-5-Trifosfatasa. Posteriormente se identificaron los receptores específicos de 5-HT responsables del incremento en la activación de la bomba de sodio potasio en glía de corteza cerebral, hipocampo y cerebelo de rata, encontrando la participación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> en corteza cerebral e hipocampo en menor cantidad, y en cerebelo el 5-HT<sub>6</sub> y el 5-HT<sub>2</sub> (Peña, et al., 1998). Por otro lado en algunos establecimientos industriales principalmente como gasolineras, industrias de petróleo, fábricas de pinturas, plásticos etc. el personal que labora en estos lugares es susceptible a un tipo de intoxicación moderada por vapores de sustancias como Benceno Tolueno y Xileno éste tipo de sustancias como ya se mencionó afectan de manera permanente la salud y así afectando las capacidades cerebrales. En México sigue siendo un problema de salud pública la inhalación de solventes entre ellos los más comunes el Tolueno, Xileno y Benceno ya que estas sustancias no están prohibidas por la Ley y tienen un costo muy accesible, se ha observado que algunos adolescentes jóvenes y niños de todos los estratos sociales utilizan este tipo de sustancias con fines recreativos

adquiriendo un estado de conciencia alterado.

Actualmente, no se conoce si la exposición a solventes inhalables de abuso ocasiona cambios en la actividad de la bomba de sodio y potasio en cerebelo y si estos cambios modifican la interacción bomba de sodio y potasio-serotonina en el cerebelo de ratas. Por lo cual planteamos la siguiente:

## **VII.- HIPOTESIS**

LA EXPOSICIÓN A SOLVENTES INHALABLES DE ABUSO MODIFICAN LA ACTIVIDAD DE LA BOMBA DE SODIO Y POTASIO Y SU INTERACCIÓN CON LA SEROTONINA EN CEREBELO DE RATAS.

## **VIII. OBJETIVO GENERAL:**

Determinar el efecto de la exposición a solventes inhalables de abuso sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio y su interacción con la serotonina

## **IX. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- 1.- Exponer crónicamente a solventes inhalables de abuso a ratas macho adultas.
- 2.- Determinar el efecto de los solventes inhalables de abuso sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio.
- 3.- Determinar el efecto de la exposición a solventes inhalables de abuso sobre la interacción bomba de sodio y potasio-serotonina.

## **X. MATERIAL Y METODOS:**

### **X.1 ANIMALES**

Se utilizaron ratas macho adultas de la cepa Wistar Porton de 300g  $\pm$  20g de peso corporal (fig. 14) , se mantuvieron bajo condiciones ambientales controladas de ciclos de luz-oscuridad de 12 h. Cada uno con una humedad relativa del 80% a una temperatura de 20-25°C. Se sometieron a un régimen nutricional ad libitum tanto de agua como de alimento purina Chow en las instalaciones del bioterio de la facultad de Químicofarmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.



Fig. 14 Ratas macho de la cepa Wistar Porton.

### **X.2 INTOXICACIÓN CON SOLVENTES INHALABLES DE ABUSO:**

Para el presente estudio se formaron tres grupos de ratas, cada grupo se expuso a 600 ppm durante 30 minutos, dos veces por día durante 8 semanas a Tolueno, Benceno y Xileno respectivamente, cada grupo contó con su respectivo grupo control.

### **X.3 PREPARACIÓN DEL HOMOGENEIZADO DE CEREBELO:**

A las 8 semanas de exposición al solvente respectivo los animales fueron sacrificados entre las 9:00 y las 10:00 am por desnucación cervical, se les practicó una incisión media torácica con el objeto de exponer al corazón, enseguida se seccionó la vena cava inferior y se realizó una infusión intracardiaca a nivel del ventrículo izquierdo con 20 ml. de solución salina isotónica fría al 0.9% (p/v) para perfundir el cerebro y remover la sangre del

mismo. Las ratas se decapitaron y de inmediato se extrajo el cerebro, se colocó sobre una placa de hielo y se disecó el cerebelo el cual se homogeneizó en 10 volúmenes de una solución amortiguadora de Tris-HCl 50mM a un pH = 7.4 con diez pasos a 700 rpm en un homogeneizador Thomas de émbolo de teflón de 0.25 mm de tolerancia en su diámetro.

Posteriormente se realizó la determinación de proteína por el método de Lowry et. al. (1951).

#### **X.4 DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE LA BOMBA DE SODIO Y POTASIO:**

La actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa se determinó por el método utilizado por Mercado y Hernández (1992). En alícuotas de 25 µL equivalentes a 50 µg de proteína de homogeneizado o de las fracciones enriquecidas con membranas gliales y neuronales se incubaron en un medio que contenía (en mM): Tris-HCl 50 pH 7.4, Mg<sub>2</sub>Cl 6mM, KCl 15 mM, NaCl 120 mM con agua para medir la actividad específica de la Bomba de sodio y Potasio. Se incubó el tejido durante 5 min. en un baño metabólico Dubnoff con agitación constante a 37°C (fig. 15), posteriormente se agregaron: la serotonina y agonistas o antagonistas serotoninérgicos. Se adicionó 50 µL ATP (adenosin-trifosfato, sal libre de vanadio), pH de 6.5, 3 Mm a los 25 minutos y finalmente la reacción se detuvo a los 10 minutos adicionando 20 µL de TCA (ácido tricloroacético) frío al 50% colocando las muestras en una placa de Hielo para después centrifugarlas a 3000 rpm durante 10 min. Se tomaron 100 µL del sobrenadante para determinar el Pi liberado a los tubos que contenían 500 µL de solución de sulfato ferroso al 4%, ácido sulfúrico 1.14 N. y molibdato de amonio al 1%, se completó el volumen final con 400 µL de agua los tubos se agitaron vigorosamente y se midió la absorbancia. El fosfato inorgánico se determinó espectrofotométricamente a 800 nm a los 10 min. De iniciada la reacción de acuerdo al método de Fiske Subbarrow (1925).



Fig. 15 Baño metabólico Dubnoff

Las lecturas de absorbencia se extrapolaron en una curva patrón de fosfato de Potasio que se corrió en cada experimento. La actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa fue calculada como la diferencia entre la actividad medida en presencia de Ouabaína y la actividad total.

#### **X.5 EFECTO DE AGONISTAS Y ANTAGONISTAS DE RECEPTOR 5-HT<sub>2</sub> SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA BOMBA DE SODIO Y POTASIO.**

Para determinar el efecto de agonistas del receptor 5-HT<sub>2</sub> (5-HT,  $\alpha$ -Metil-5-HT) y antagonistas (Ritanserina, Ciproheptadina y Espiperona) sobre la actividad de la enzima, éstos se agregaron cada uno por separado y se midió la actividad de la bomba de sodio y potasio como se describió anteriormente.

#### **X.6 ANALISIS ESTADISTICO:**

Se calculó la media y desviación estándar, y se aplicó la prueba de t de "student", los gráficos se realizaron mediante el programa GraphPad Prism 3.0.

## XI. RESULTADOS

En la figura 16 muestra la actividad basal de la bomba de sodio y potasio en cerebelo de ratas macho adultas. Se observa incremento en la actividad del 13% en el grupo expuesto a Tolueno, y disminución de la actividad de 18 y 38% en los grupos expuestos a benceno y xileno respectivamente comparados con el grupo control

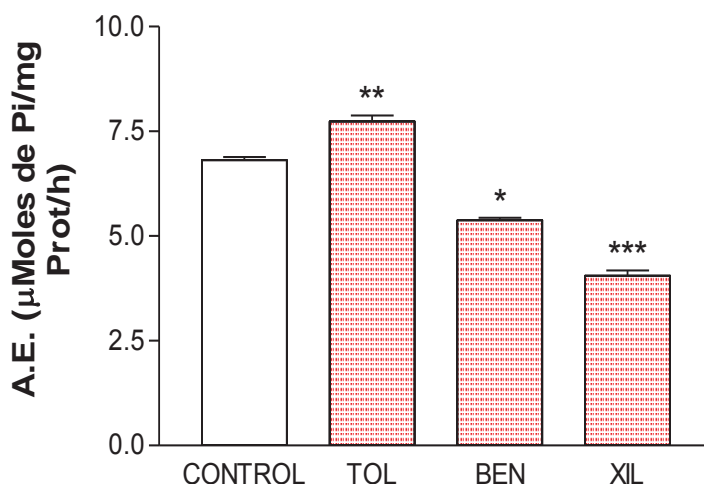


Fig. 16 Actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  -ATPasa en homogeneizado de cerebelo.  $\bar{X} \pm \text{D.E.}$  de 4 experimentos realizados por triplicado con \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  respectivamente.

La figura 17 muestra la curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la serotonina donde se observa un aumento de la actividad en el grupo expuesto a Tolueno comparado con el control, así como disminución de la actividad en los grupos de ratas expuestas a benceno y xileno. La tabla 2 muestra la D.E<sub>50</sub> calculada de los diferentes grupos

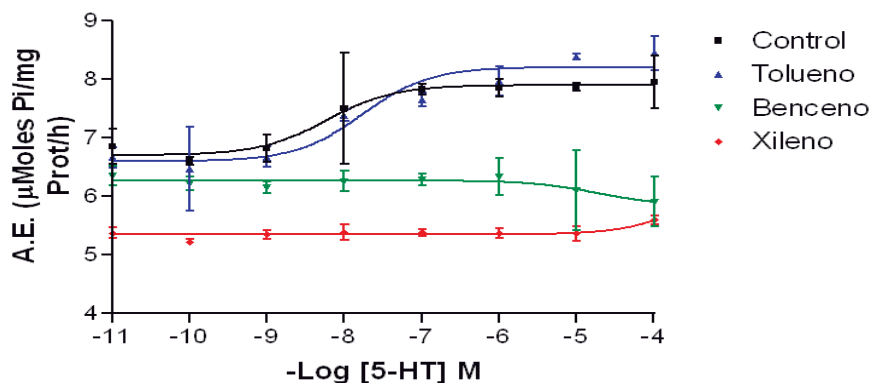


Fig. 17. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la 5-HT en homogeneizado de cerebelo. Con una X ± D.E. de 4 experimentos realizados por triplicado.

Grupo	D.E <sub>50</sub>
Control	5.772e <sup>-9</sup>
Tolueno	1.6830e <sup>-8</sup>
Benceno	1.9040e <sup>-5</sup>
Xileno	1.7491e <sup>-6</sup>

Tabla 2.- D.E.<sub>50</sub> de las curvas dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la serotonina en homogeneizado de cerebelo.

La Fig. 18 muestra la curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio al  $\alpha$ -metil-5HT en cerebelo de ratas expuestas a solventes inhalables de abuso. La D.E<sub>50</sub> se muestra en la tabla III

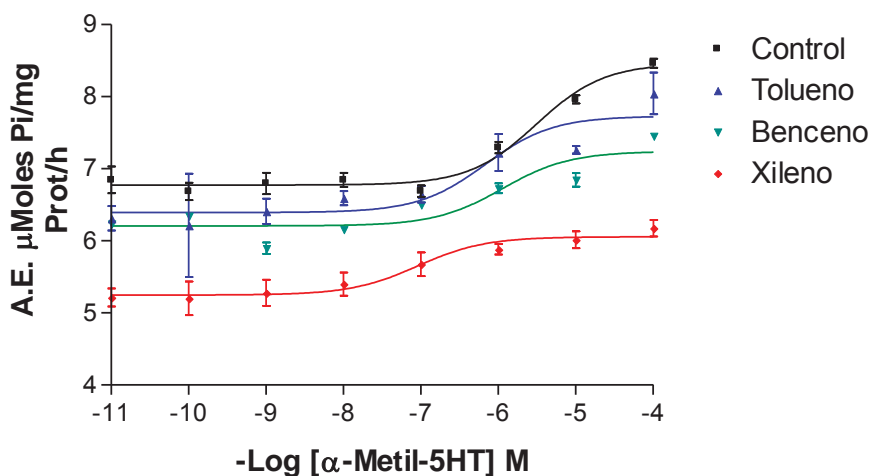


Fig. 18. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la  $\alpha$ -Metil- 5-HT en homogeneizado de cerebelo. Con una  $X \pm D.E.$  de 4 experimentos realizados por triplicado.

Grupo	D.E <sub>50</sub>
Control	$5.6260e^{-6}$
Tolueno	$1.3690e^{-7}$
Benceno	$1.3610e^{-6}$
Xileno	$5.9137e^{-8}$

Tabla 3.- D.E<sub>50</sub> de la curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio al  $\alpha$ -Metil-5-HT en homogeneizado de cerebelo.



La figura. 19 muestra la curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la Espiperona en homogeneizado de cerebelo de ratas macho adultas la D.E.<sub>.50</sub> se muestra en la tabla IV.

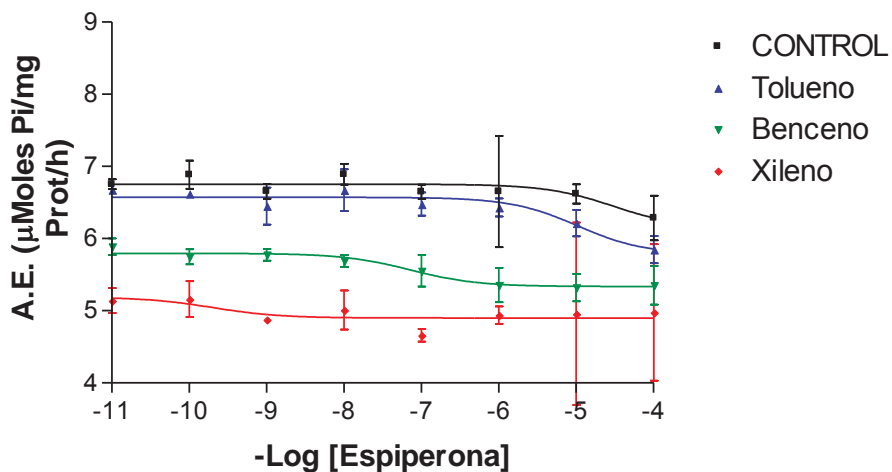


Fig. 19. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la Espiperona en homogeneizado de cerebelo de ratas macho adultas. Con una  $X \pm \text{D.E.}$  de 4 experimentos realizados por triplicado.

Grupo	D.E
Control	$2.9850e^{-5}$
Tolueno	$1.0460e^{-5}$
Benceno	$7.1740e^{-8}$
Xileno	$5.9137e^{-7}$

La tabla 4.- D.E.<sub>.50</sub> del efecto de la espiperona sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en homogeneizado de cerebelo.

La figura. 20 muestra la curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la Ciproheptadina sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en homogeneizado de cerebelo de ratas macho adultas. La D.E.<sub>50</sub> calculada se muestra en la tabla V.

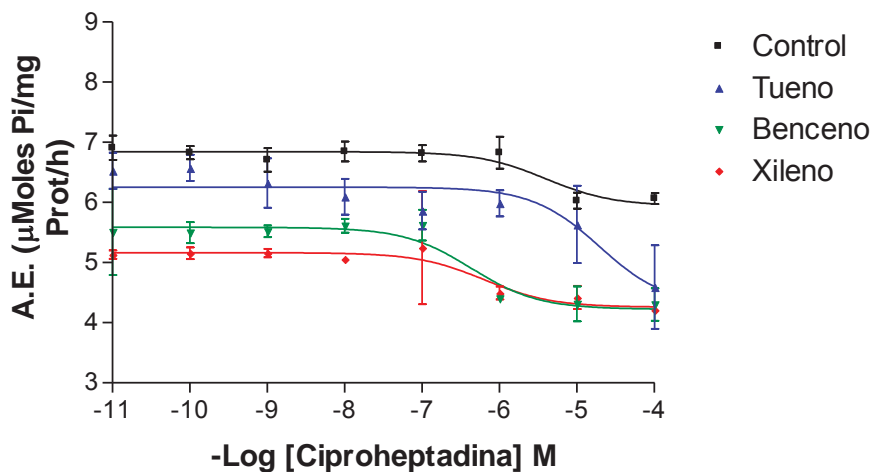


Fig. 20. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la Ciproheptadina en homogeneizado de cerebelo de ratas macho adultas. Con una  $X \pm$  D.E. de 4 experimentos realizados por triplicado.

Grupo	DE <sub>50</sub>
Control	$3.981e^{-7}$
Tolueno	$1.9560e^{-5}$
Benceno	$4.3260e^{-7}$
Xileno	$6.437e^{-7}$

Tabla 5.- D.E.<sub>50</sub> del efecto de la ciproheptadina sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en homogeneizado de cerebelo de ratas macho adultas.

La figura. 21 muestra la curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la Ritanserina sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en homogeneizado de cerebelo de ratas macho adultas. Las D.E<sub>50</sub> calculadas se muestran en la tabla VI.

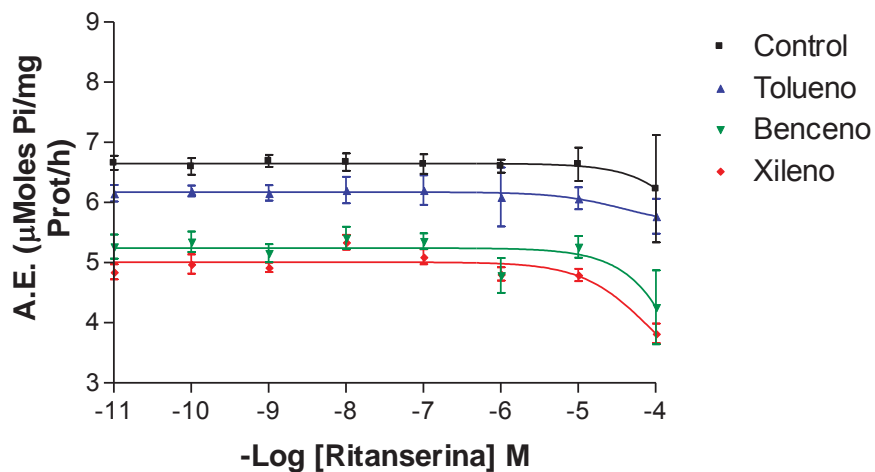


Fig. 21. Curva dosis-respuesta de la bomba de sodio y potasio a la Ritanserina en homogeneizado de cerebelo de ratas macho adultas. Con una  $X \pm D.E.$  de 4 experimentos realizados por triplicado.

Grupo	D.E <sub>50</sub>
Control	5.6100e <sup>-5</sup>
Tolueno	3.8400e <sup>-5</sup>
Benceno	4.5670e <sup>-5</sup>
Xileno	8.3310e <sup>-5</sup>

Tabla 6.- D.E<sub>50</sub> del efecto de la ritanserina sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en homogeneizado de cerebelo.

### XIII.- DISCUSION

Los solventes son un grupo de productos químicos, que se caracterizan por ser líquidos, gases volátiles que poseen un alta liposolubilidad atravesando de ésta manera la barrera hematoencefálica y provocando un estado alterado de conciencia en humanos. Actualmente en México es un problema de salud pública la drogadicción en adolescentes principalmente en zonas urbanas, esto es causado por diferentes factores principalmente emocionales. Además no son el único grupo en la sociedad que esta afectado por éste tipo de sustancias, ya que en diferentes áreas laborales por ejemplo gasolineras, industrias y talleres de pinturas, industrias cosméticas, refinerías y de mantenimiento automotriz etc. donde el trabajador esta expuesto a éste tipo de sustancias de una manera crónica.

En el presente trabajo se observó disminución de la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa en cerebelo de ratas macho adultas expuestas a concentraciones de 600 ppm con solventes orgánicos como Benceno y Xileno con esto explicando probablemente el origen de los trastornos que producen un estado alterado de conciencia provocados por el funcionamiento alterado de los sistemas de neurotransmisión (Moseley et. al., 2006) ya que el complejo enzimático de la ATPasa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  participa principalmente en el restablecimiento del potencial eléctrico de la membrana intercambiando tres iones sodio por 2 iones potasio en la célula (Caldwell et al., 1960) de esta manera manteniendo el volumen celular, al igual que también es realizada la captura de metabolitos (Rossier et al., 1987;) y neurotransmisores (Tissari et al., 1969;). Por otra parte se ha documentado que el neurotransmisor 5HT (5-hidroxi-triptamina) o serotonina origina un aumento en la actividad de la ATPasa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (Peña et. al., 1998), con la administración de agonistas serotoninérgicos se obtiene el mismo efecto de aumento de la actividad sugiriendo la participación de receptores serotoninérgicos.

En éste trabajo se utilizaron diferentes antagonistas para  $5\text{HT}_{2A}$ ,  $5\text{HT}_{2C}$ ,  $5\text{HT}_{1A}$  y también agonistas como el  $\alpha$ -Metil-5HT que es un agonista inespecífico serotoninérgico de  $5\text{HT}_{2A}$ ,  $5\text{HT}_{2C}$ , con el fin de observar si los efectos causados

por los solventes sean revertidos, mostrando un efecto compensatorio pero no igual a los tejidos control, y en los tejidos tratados con antagonistas se obtuvo una disminución de la actividad aún mayor.

En el grupo expuesto a Benceno se mostró una disminución de la actividad de la enzima. En los tejidos tratados con el agonista  $\alpha$ -Metil-5HT se obtuvo un efecto compensatorio como se indicó anteriormente pero no fue lo suficiente para igualar la actividad del tejido control y cuando se administraron los diferentes antagonistas ciproheptadina, ritanserina y espiperona se observó un efecto de disminución aún mayor en la actividad en los tejidos expuestos al solvente.

En el grupo expuesto al Xileno, la actividad de la enzima disminuyó un 38.79% comparados con los controles. En los experimentos realizados con el agonista  $\alpha$ -Metil-5HT se observa por parte del tejido control del grupo expuesto al Xileno un incremento de la actividad a la mayor concentración del agonista, la actividad de la enzima en el grupo expuesto al xileno no incrementó al valor para alcanzar los valores basales, por el contrario el efecto que se presenta con los antagonistas induce una disminución aún mayor teniendo un efecto de adición en el grupo expuesto al solvente.

A diferencia de los fenómenos anteriores donde se presenta una disminución de la actividad de la bomba de sodio y potasio en cerebelo por la intoxicación de los diferentes gases Benceno y Xileno, con el Tolueno se presenta un fenómeno contrario donde la actividad del grupo expuesto fue mayor que la de los tejidos control, esto ocurre porque al igual que el etanol el tolueno es un inhibidor de los receptores NMDA y nicotínicos y aumenta la actividad de los receptores GABA<sub>A</sub>, Glicina y 5HT<sub>3</sub> (Lara, M. A. 1998).

Los receptores 5HT<sub>2A</sub> fueron identificados en las células de Purkinje, en la capa granular, en las células de Golgi, en las de Lugaro, en el núcleo profundo y en la capa granular (Frederik J. Geurts., Erik De Schutter., Jean-Pierre Timmermans. 2001).

### **XIII. CONCLUSIONES:**

Los solventes inhalables de abuso modifican la actividad de la bomba de sodio y potasio y su respuesta a la serotonina.

#### XIV. REFERENCIAS:

Alfred Goodman Gilman, Joel G. Hardman, Lee E. Limbird, 2001, Las bases farmacológicas de la terapéutica, Mac Graw Hill, décima edición, sección III fármacos con acción en el sistema nervioso central. Pp. 299-331.

Antonelli M. C. Costa Lieste M., Mercado C. R., and Hernández R. J. 1997. Serotonin Modulation of Low-Affinity Ouabain Binding in Rat Brain Determined by Quantitative Autoradiography Neurochemical Research. Vol: 23 No. 7 Pp. 939-944.

Blanco, G.; Sánchez G. and Mercer, W. R. (1998). Differential Regulation of Na,K-ATPase Isozymes by Protein Kinases and Arachidonic Acid. Journal of Neurochemistry. 359, 139-150.

Candel Eric R., James H. Schwartz, Thomas M. Jessell, 2000, Principios de Neurociencia, Mc Graw Hill-Interamericana, Cuarta edición, parte II, III interacciones elementales entre neuronas: transmisión sináptica, pp 175-298.

Caudillo, N. Me., (2005) Efecto de antagonistas 5-HT<sub>2</sub> sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en cerebelo de ratas macho. Tesis de Licenciatura. Facultad de Químico-farmacobiología U.M.S.N.H., Moleria Michoacán, México.

Celis, N.K. (2005) Los antagonistas de los receptores 5-HT<sub>2</sub> tienen efecto de agonismo inverso sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio. Tesis de Licenciatura Facultad de Químico Farmacobiología U.M.S.N.H., Morelia Michoacán, México.

Clifford, J. R. and Kaplan H. J. 2009 Regulation of Na,K-ATPase Subunit Abundance by Translational Repression. Vol. 284: 22905-22915.

Edith Muller and A. G. E. Pearse (1968). The Effect of Catecholamines on Alkaline Phosphatase Activity in Rat Heart. Cardiovasc Res. 4, 391-395.

Fiske, C. and Subarrow, Y. (1925) The colorimetric determination of phosphorus J. Biol. Chem. 66: 375-400

Geurts, J. F.; De Schutter, E.; Timmermans, J. P. (2002) Localization of 5-

HT2A, 5-HT3, 5-HT5A and 5-HT7 receptor-like immunoreactivity in the rat cerebellum. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 24, 65-74.

Hernández, (1979<sup>a</sup>). Developmental Pattern of the Serotonin Synthesizing Enzyme in the Brain Of Postnatally Malnourished Rats. *Cellular and Molecular life Sciences*. 29, 1487-1488.

Hernández, (1982). A serotonin agonist-antagonist reversible effect of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity in the developing rat brain. *Developmental Neuroscience*. 4, 326-331.

Lara M.A.; Medina-Mora, M. E.; Romero, M.; Dominguez, M. 1998. Un estudio cualitativo sobre el consumo de disolventes inhalables en estudiantes. *Psiquiatría Pública*.; 10 (6) : 399-407.

Lowry, O., Rosebrough, N, Farr, A. and Randall, R. 1951 Protein measured with the Folin phenol of reagent. *J. Biol. Chem* 193: 265-275

M. F. Rossier et. al., (1987). Metabolism of inositol 1,4,5-trisphosphate in permeabilized rat aortic smooth-muscle cells. Dependence on calcium concentration. *Biochem J*. 245, 305-307.

Mathews, C. K., Van Holde, K.E. and Ahren, K.G. (2003) *Bioquímica*. Capítulo 12: 875-877. McDonough, A.A., Greering, K., and Farley, R.A. (1990) The sodium pump needs its beta subunit. *FASEB J.*, 4:1598-1605.

Mercado, C. R. and Hernández R. J. 1991. Regulatory Role of a Neurotransmitter (5-HT) on Glia Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase in the Rat Brain. *Neurochem. Int*. 2:119-127.

Mercado, C. R., and Hernández R. J. 1991. Regulatory Role of a Neurotransmitter (5-HT) on Glia Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase in the Rat Brain. *Neurochem: Int*. 103-106.

Mercado, C. R., Floran, B., and Hernández, R. J. (1998) Regulated release of the serotonin from axonal growth cones isolated from fetal rat brain. *Neurochem: int*. 103-106.



Moseley, E. A.; Williams, T. M.; Schaefer L. T.; Bohanan, S. C.; Neumann, C. J.; Behbehani M. M.; Vorhees, V. C. and Lingrel, B. J. (2006) Deficiency in Na,K-ATPase  $\alpha$  Isoform Genes Alters Spatial Learning, Motor Activity, and Anxiety in Mice., 3:616-626.

Otto Walaas, Eva Walaas, Einar Lystad, Aase Rye Alertsén and Robert S. Horn. (1979); The effect of insulin and guanosine nucleotides on protein phosphorylations by sarcolemma membranes from skeletal muscle. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 16, 45-55.

Paul de Weer et al., (1970). Effects of Intracellular Adenosine-5'-diphosphate and Orthophosphate on the Sensitivity of Sodium Efflux from Squid Axon to External Sodium and Potassium. *The Journal of General Physiology*. 56, 583-620.

Peña, et. al., (1998). Regulation of Glial Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase by Serotonin: Identification of Participating Receptors. *Neurochemical Research*. 24, 643-649.

Peña-Rangel M.T. Mercado-C.R., and Hernández-R.J. 1999. Regulation of Glía Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase by Serotonin: Identification of participating Receptors. *Neurochemical Research*. Vol.24, No: 5.Pp643-649

R. Lindmar and K. Löffelholz. (1974) The neuronal efflux of noradrenaline: Dependency on sodium and facilitation by ouabain. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*. 284, 93-100.

Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L., 2003, *Bioquímica*, Quinta edición, Reverte, Capítulo 12 Lípidos y membranas Celulares, pp: 200-320.