



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“EFECTO DE LA EXPOSICIÓN AGUDA Y CRÓNICA A DISOLVENTES DE
ABUSO SOBRE LAS CONVULSIONES INDUCIDAS POR PENTILENTETRAZOL
EN RATONES”**

TESIS QUE PRESENTA

LUIS ADOLFO LEONHARDT AVALOS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

DIRECTOR DE TESIS

D.C. MARCIA YVETTE GAUTHEREAU TORRES

MORELIA MICHOACÁN, DICIEMBRE DEL 2014

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco a la Dra. Marcia Yvette Gauthereau Torres por su enorme paciencia, confianza y apoyo para realizar este trabajo.

A mis sinodales por su tiempo y comentarios para enriquecer este proyecto. Especialmente los doctores Daniel Godínez Hernández y Luis Fernando Ortega Varela por sus consejos y amistad.

A todos los compañeros y amigos del laboratorio: Ángel, Gabo, Karina, Leslie, Naye y Susy, por su amistad y apoyo.

A mis padres, por su cariño y paciencia.

Por último, quiero darle las gracias a mi novia, Ixchel, por sus consejos, cariño, confianza y apoyo en momentos difíciles.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|----|
| Índice de figuras..... | 4 |
| Índice de tablas..... | 5 |
| Lista de abreviaturas..... | 6 |
| Resumen..... | 7 |
| Abstract..... | 8 |
| | |
| I. Introducción..... | 9 |
| 1. Inhalables..... | 9 |
| 1.1. Definición..... | 9 |
| 1.2. Clasificación..... | 9 |
| 1.2.1. Alquil nitritos volátiles..... | 9 |
| 1.2.2. Óxido nitroso..... | 9 |
| 1.2.3. Disolventes volátiles, combustibles y anestésicos..... | 10 |
| 1.3. Generalidades..... | 11 |
| 1.3.1. Modelos animales de exposición a disolventes..... | 13 |
| 2. Disolventes..... | 14 |
| 2.1. Tolueno..... | 14 |
| 2.1.1. Propiedades fisicoquímicas..... | 14 |
| 2.1.2. Usos..... | 14 |
| 2.1.3. Farmacocinética..... | 14 |
| 2.2. Xileno..... | 15 |
| 2.2.1. Propiedades fisicoquímicas..... | 15 |
| 2.2.2. Usos..... | 15 |
| 2.2.3. Farmacocinética..... | 16 |
| 2.3. Mecanismos celulares de acción..... | 16 |
| 2.3.1. Efectos sobre receptores glutamatérgicos..... | 16 |
| 2.3.2. Efectos sobre GABA y glicina..... | 16 |
| 2.3.3. Efectos sobre receptores nicotínicos..... | 17 |
| 2.3.4. Efectos sobre receptores serotoninérgicos..... | 17 |
| 2.3.5. Efectos sobre sistema dopaminérgico..... | 17 |
| 2.3.6. Efectos sobre receptores purinérgicos..... | 18 |
| 2.3.7. Efectos sobre canales iónicos activados por voltaje..... | 18 |
| 3. Efectos conductuales..... | 19 |
| 3.1. Propiedades estímulo-discriminativas..... | 19 |
| 3.2. Propiedades de reforzamiento..... | 19 |
| 3.3. Efectos sobre la actividad locomotora espontánea..... | 20 |
| 3.4. Efectos anticonvulsivantes..... | 20 |
| 3.5. Efectos ansiolíticos..... | 21 |
| 3.6. Efectos sobre nocicepción..... | 21 |
| 4. Efectos crónicos..... | 22 |
| 4.1. Adicción..... | 22 |
| 4.2. Tolerancia..... | 22 |
| 4.3. Sensibilización..... | 22 |

| | |
|--|----|
| 4.4. Dependencia..... | 23 |
| 4.5. Efectos sobre el aprendizaje y la memoria..... | 23 |
| 4.6. Efectos sobre la alimentación..... | 24 |
| 5. Efectos de la exposición a disolventes durante el embarazo..... | 24 |
| 6. Neurotransmisión y SNC..... | 24 |
| 6.1. Neurotransmisores..... | 25 |
| 6.1.1. Glutamato..... | 25 |
| 6.1.2. GABA..... | 25 |
| 6.1.2.1. Receptor GABA _A | 26 |
| 7. Convulsiones..... | 27 |
| 7.1. Agentes proconvulsivantes..... | 27 |
| 7.1.1. Pentilentetrazol..... | 27 |
| II. Justificación..... | 29 |
| III. Hipótesis..... | 30 |
| IV. Objetivos..... | 31 |
| 1. Objetivo general..... | 31 |
| 2. Objetivos específicos..... | 31 |
| V. Metodología..... | 31 |
| 1. Animales..... | 31 |
| 2. Sustancias..... | 31 |
| 3. Exposición a disolventes..... | 32 |
| 3.1. Exposición aguda..... | 34 |
| 3.2. Exposición subaguda..... | 34 |
| 3.3. Exposición crónica..... | 34 |
| 4. Variables evaluadas..... | 34 |
| 5. Análisis de datos..... | 34 |
| VI. Resultados..... | 35 |
| 1. Efectos de la exposición aguda a disolventes..... | 35 |
| 2. Efectos de la exposición subaguda a disolventes..... | 39 |
| 2.1. Tolueno..... | 39 |
| 2.2. Xileno..... | 43 |
| 3. Efectos de la exposición crónica a xileno..... | 48 |
| VII. Discusión..... | 53 |
| VIII. Conclusiones..... | 57 |
| IX. Referencias..... | 58 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1.- Estructura química del tolueno..... | 14 |
| Figura 2.- Estructura química del xileno..... | 15 |
| Figura 3.- Estructura del receptor GABA _A | 26 |
| Figura 4.- Cámara de exposición estática..... | 33 |
| Figura 5.- Efecto de la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm) sobre la latencia para la presentación de CC..... | 35 |
| Figura 6.- Efecto de la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm) sobre el número de CC..... | 36 |
| Figura 7.- Efecto de la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm) sobre la latencia para la presentación de CCT..... | 37 |
| Figura 8.- Efecto de la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm) sobre el número de CCT..... | 37 |
| Figura 9.- Porcentaje de animales que presentan CCT durante la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm)..... | 38 |
| Figura 10.- Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm) sobre la latencia para la presentación de CC..... | 39 |
| Figura 11.- Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm) sobre el número de CC..... | 40 |
| Figura 12.- Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm) sobre la latencia de presentación de CCT..... | 40 |
| Figura 13.- Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm) sobre el número de CCT..... | 41 |
| Figura 14.- Porcentaje de animales que presentan CCT durante la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm)..... | 42 |
| Figura 15.- Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm) sobre la latencia de presentación de CC..... | 43 |
| Figura 16.- Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm) sobre el número de CC..... | 44 |
| Figura 17.- Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm) sobre la presentación de CCT..... | 45 |
| Figura 18.- Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm) sobre el número de CCT..... | 46 |
| Figura 19.- Porcentaje de animales que presentan CCT durante la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm)..... | 47 |
| Figura 20.- Efecto de la exposición aguda y crónica (60 días) a xileno (6000 ppm) sobre la latencia de presentación de CC..... | 48 |
| Figura 21.- Efecto de la exposición crónica (60 días) a xileno (6000 ppm) sobre el número de CC..... | 49 |
| Figura 22.- Efecto de la exposición crónica (60 días) a xileno (6000 ppm) sobre el consumo de alimento..... | 50 |
| Figura 23.- Efecto de la exposición crónica (60 días) a xileno (6000 ppm) sobre la ingesta de agua..... | 51 |

Figura 24.- Efecto de la exposición crónica (60 días) a xileno (6000 ppm) sobre el peso corporal de los ratones..... 52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Clasificación de los disolventes de acuerdo a su estructura química..... 10
Tabla 2.- Sustancias volátiles que pueden ser sujeto de abuso y sus constituyentes..... 11
Tabla 3.- Propiedades fisicoquímicas del tolueno..... 14
Tabla 4.- Propiedades fisicoquímicas del xileno..... 15

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|---------------------|---|
| 5HT ₃ | Receptor serotoninérgico subtipo 3 |
| AMPA | Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4isoxazol propiónico |
| ATP | Adenosina trifosfato |
| CC | Convulsión clónica |
| CCT | Convulsión clónico-tónica |
| CI ₅₀ | Concentración inhibitoria 50 |
| GABA | Ácido γ -aminobutírico |
| GABA _A | Receptor GABA subtipo A |
| i.v. | Intravenoso |
| i.p. | Intraperitoneal |
| kg | Kilogramo |
| mg | Miligramo |
| ml | Mililitro |
| μ M | Micromolar |
| mM | Milimolar |
| Na _v 1.4 | Canales de sodio de músculo esquelético |
| Na _v 1.5 | Canales de sodio de músculo cardiaco |
| NMDA | N-Metil-D-Aspartato |
| P1 | Receptor purinérgico a Adenosina |
| P2X | Receptor purinérgico a ATP |
| ppm | Partes por millón |
| PTX | Picrotoxina |
| PTZ | Pentilentetrazol |
| SNC | Sistema nervioso central |
| TBPS | Terbutilbiciclofosforotionato |
| TCE | 1, 1, 1-tricloroetano |

Resumen

El tolueno y el xileno son disolventes de abuso presentes en pegamentos, pinturas acrílicas y “thinner”. Gracias a estudios conductuales realizados con animales de laboratorio, se estableció que estos disolventes tienen acciones semejantes a los depresores clásicos del sistema nervioso central, con base en ello, se ha propuesto que estas sustancias podrían compartir algunos mecanismos de acción y que podrían tener efectos anticonvulsivantes. De hecho, se sabe que el tolueno incrementa la actividad de los receptores GABA_A *in vitro*, produciendo un efecto depresor. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la administración aguda, subaguda y crónica de tolueno y de xileno sobre la susceptibilidad hacia las convulsiones inducidas por pentilentetrazol (PTZ) en ratones, así como sobre las modificaciones en la ingesta de alimento, agua y el peso corporal. En la exposición aguda, se usaron ratones macho CD1 (25-35 g), los cuales se expusieron a tolueno (4000 ppm), a xileno (6000 ppm) o aire en una cámara de exposición estática durante 30 min; una vez transcurrido este tiempo, se les administró el agente convulsivante (PTZ 60 mg/kg) y se introdujeron en una segunda cámara donde fueron expuestos a disolvente o aire durante 30 min para evaluar la presentación de convulsiones. En la exposición subaguda (7 días) y crónica (60 días), los animales se expusieron a tolueno (4000 ppm), xileno (6000 ppm) o aire durante 30 min, 2 veces al día, por 7 y 60 días respectivamente, los días 8 y 61, los animales se evaluaron conforme al primer protocolo experimental. Durante el periodo de exposición crónica a xileno (6000 ppm), se llevó a cabo un registro semanal del peso corporal, gramos de alimento consumido y mililitros de agua consumida por los ratones, observándose una disminución en el consumo de alimento y agua, a partir de la cuarta semana, por parte de los ratones expuestos de manera crónica (60 días) a xileno (6000 ppm). De acuerdo a los resultados obtenidos en la exposición aguda, se encontró que los disolventes tuvieron efectos anticonvulsivantes y de protección contra la muerte inducida por PTZ, lo cual podría ser debido a una potenciación de los receptores GABA_A. Por su parte los disolventes, en administraciones repetidas, perdieron en parte su efecto protector en contra de las convulsiones producidas por PTZ, al aumentar el número de convulsiones clónicas que se presentaron en comparación con los resultados de la fase aguda, lo cual podría deberse, al menos en parte, a una regulación en la baja de los receptores GABA_A.

Palabras clave: Disolventes, efecto anticonvulsivante, PTZ, GABA_A.

Abstract

Toluene and xylene are misused solvents found in glue, paints and thinner. Behavioral tests have shown that solvents have similar effects to classical depressant central nervous system, thus, it has been proposed that solvents could share some of their mechanisms of action and may have anticonvulsant effects. In fact, it is known that toluene enhances GABA_A receptor activity *in vitro*, producing a depressant effect. The aim of this study was to assess the effect of acute, sub-acute and chronic exposure to toluene and xylene on convulsions induced by pentylenetetrazole (PTZ) in mice, as well as on body weight and food and water intake modifications. For acute exposure, CD1 male mice (25-35 g) were exposed to toluene (4000 ppm), xylene (6000 ppm) or air in a static exposure chamber for 30 min; after that, mice were i.p. administrated with a proconvulsant drug (PTZ 60 mg/ kg) and were placed in a second chamber and exposed to solvent or air for 30 min to assess the presence of convulsions. For sub-acute (7 days) and chronic (60 days) exposures, animals were exposed to toluene (4000 ppm), xylene (6000 ppm) or air twice a day; on 8th and 61st days, respectively, animals were evaluated the same way as acute exposure. Furthermore, we made a record of body weight and food and water intake weekly during chronic exposure (60 days) to xylene (6000 ppm). We observed a decrease in food and water intake in mice exposed to xylene (6000 ppm) for 60 days at fourth week of treatment. According to acute exposure results, we found that solvents had anticonvulsant effects and protected against dead induced by PTZ. This effect could be due to a GABA_A receptor potentiation. However, when mice were exposed to solvents several times, we observed a loss of their anticonvulsant effect, since there was an increase in the number of clonic convulsions compared to acute exposure. This effect could be due, in part, to a down-regulation of GABA_A receptors.

Keywords: Solvents, anticonvulsant effect, PTZ, GABA_A.

I. INTRODUCCIÓN

1. INHALABLES

1.1. DEFINICIÓN

Son compuestos volátiles a temperatura ambiente que rara vez son objeto de abuso por otra vía que no sea la de inhalación. Muchos compuestos diferentes son incluidos en esta categoría, como: gases anestésicos, nitritos y disolventes orgánicos (Dinwiddie, 1994; NIDA, 2005).

1.2. CLASIFICACIÓN

Existen varias maneras de clasificar a las sustancias químicas que son sujeto de abuso por inhalación. A veces se clasifican con base en su estructura química, otras veces con base en su uso comercial. Sin embargo, pueden clasificarse en 3 grupos de acuerdo a su perfil farmacológico y efectos conductuales (Balster, 1998):

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

1.2.1. ALQUIL NITRITOS VOLÁTILES

El alquil nitrito prototipo es el amil nitrito, el cual se ha utilizado para el tratamiento de la angina de pecho, aunque su uso ha sido sustancialmente reemplazado por el uso de nitroglicerina y otros nitritos orgánicos (Balster, 1998). La mayoría de los reportes señalan que los efectos vasodilatadores y relajantes de músculo liso de los nitritos son la base de su uso (Sigell y cols., 1978; Haverkos cols., 1994). Aparentemente, estos efectos se producen mediante la liberación de óxido nítrico, un potente vasodilatador (Murad, 1986).

1.2.2. ÓXIDO NITROSO

El óxido nitroso es un gas anestésico ampliamente utilizado. Se encuentra en cargadores de dispensadores de crema batida y en aerosoles de este mismo producto vendidos para uso doméstico (Murray y Murray, 1980). Se le conoce como “gas hilarante”, porque produce un efecto euforizante y existen estudios controlados que muestran que la mayoría de los sujetos reportan “gustar” de este efecto (Dohrn cols., 1992).

1.2.3. DISOLVENTES VOLÁTILES, COMBUSTIBLES Y ANESTÉSICOS

Son un grupo de inhalables de abuso, grande y diverso químicamente. Los compuestos prototipo de este grupo son el tolueno y el 1, 1,1-tricloroetano (TCE) (Sharp, 1992). Otras clases de compuestos químicos que se encuentran frecuentemente en productos de abuso incluyen cetonas como la acetona, clorofluorocarbonos como el Freón™, hidrocarburos halogenados como el cloruro de etilo, el tricloroetileno, el tetracloroetileno e hidrocarburos aromáticos como el xileno y el benceno (Balster, 1998).

Los disolventes, a su vez, se clasifican en varios grupos de acuerdo con su estructura química (Tabla 1) (Páez-Martínez y cols., 2003).

Tabla 1. Clasificación de los disolventes de acuerdo a su estructura química.

| Grupo | Estructura química característica | Ejemplos |
|----------------------------------|---|---|
| Hidrocarburos alifáticos | Cadenas lineales o ramificadas de carbono e hidrogeno | Hexano, heptano |
| Hidrocarburos aromáticos | Estructuras que contienen 6 átomos de carbono con un átomo de hidrogeno por carbono. Contiene 3 dobles ligaduras y varias formas resonantes | Benceno, tolueno, xileno, etil-benceno, propil-benceno (alquilbencenos) |
| Hidrocarburos halogenados | Hidrocarburos con un átomo de algún halógeno que reemplaza uno o más átomos de hidrógeno | 1,1,1-tricloroetano (TCE), cloroformo, fluorotil |
| Hidrocarburos cíclicos | Anillos de hidrocarburos saturados o insaturados | Ciclohexano |
| Alcoholes | Estructuras que contienen un solo grupo hidroxilo (-OH) | Etanol, metanol |
| Éteres | Contienen una ligadura C-O-C | Dietil éter, isopropil éter |
| Esteres | Estructuras que contienen un grupo carboxilo (-COO) en el interior de una cadena de hidrocarburo | Etil acetato, isopropil acetato |
| Aldehídos | Son compuestos con un grupo carbonilo (-CO) al final de una cadena de hidrocarburo | Formaldehído, acetaldehído |
| Cetonas | Contienen un grupo carbonilo entre la estructura del hidrocarburo | Acetona; metil, etil-cetona, ciclohexanona |

Modificada de Ayres y Taylor, 1989.

1.3. GENERALIDADES

Los disolventes volátiles, pertenecen a una clase amplia de inhalables que se encuentran en productos comerciales como pinturas, “thinner”, adhesivos, pegamentos, gasolina y agentes limpiadores (Arlien-Soborg, 1992). Estos productos constan de varias combinaciones de químicos tóxicos, los cuales son absorbidos rápidamente hacia el torrente sanguíneo y el SNC (Brouette y Anton, 2001; Brust, 1993). La tabla 2 enlista varios productos comerciales y los distintos inhalables que contienen.

Tabla 2. Sustancias volátiles que pueden ser sujeto de abuso y sus constituyentes (Brouette y Anton, 2001; Brust, 1993; Flanagan y Ives, 1994; Lubman y cols., 2008).

| Sustancias y clases de compuestos | Constituyentes comunes |
|---|--|
| Gasolina | |
| Hidrocarburos aromáticos | Tolueno, benceno, xileno |
| Hidrocarburos alifáticos | n-hexano, parafinas |
| Otros | Tetraetilo de plomo (gasolina con plomo) |
| Compuestos acíclicos | Cicloalcanos o naftenos |
| Adhesivos/Pegamentos/Cementos | |
| Hidrocarburos aromáticos | Tolueno, benceno, xileno, naftaleno |
| Hidrocarburos alifáticos | n-hexano, acetatos alifáticos |
| Cetonas | Acetona, metil-butil-cetona (hexanona), acetato de etilo, metil-etil-cetona (butanona) |
| Compuestos acíclicos | Ciclohexano |
| Pinturas/Barnices/Thinners | |
| Hidrocarburos aromáticos | Tolueno, xileno, benceno |
| Hidrocarburos alifáticos | Hexano, acetatos alifáticos |
| Cetonas | Acetona, butanona, ésteres, hexanona |
| Hidrocarburos clorados | Tricloroetileno, 1,1,1-tricloroetano |
| Aerosoles | |
| Hidrocarburos alifáticos | Butano, propano |
| Fluorocarbonos | tetrafluorometano |
| Agentes limpiadores/Líquidos correctores | |
| Hidrocarburos clorados | Tricloroetileno, 1,1,1-tricloroetano. |

Los individuos pueden entrar en contacto con los disolventes de distintas formas: de manera ocupacional y de manera intencional. La exposición ocupacional se refiere a la presencia crónica de bajos niveles de inhalables en el lugar de trabajo durante periodos prolongados (6 h o más). Algunos ejemplos de ocupaciones susceptibles a tales exposiciones incluyen pintores, cosmetólogos, anestesiólogos, histólogos, químicos y trabajadores de refinerías. Las concentraciones de disolventes en el aire de tales lugares de trabajo pueden ir de 100 ppm a unos cuantos de miles de partes por millón, dependiendo del disolvente (NIOSH, 1995).

Los niveles de exposición durante episodios de abuso son mucho más altos que las concentraciones presentes durante la exposición ocupacional o incidental. El abuso de estas sustancias involucra de 15 a 20 inhalaciones de altas concentraciones de disolvente (varias miles de partes por millón) que ocurren en periodos cortos de tiempo (10-15 min) (Brouette, 2001; Marjot, 1989). Los disolventes pueden ser administrados de varias maneras: al inhalar los vapores directamente del contenedor, al respirar a través de un trapo impregnado con el disolvente o al inhalar los vapores concentrados de disolvente de un contenedor cerrado, usualmente una bolsa (Sharp-Rosenberg, 1992).

Los inhalables son objeto de abuso por un gran número de personas en todo el mundo (NIDA, 2005). Información recolectada en Estados Unidos y otros países señala que el abuso de inhalables es un problema que afecta a todos los grupos de edad (Johnston, 2002; SAMHSA, 2003). En varias culturas, este problema es ubicuo y epidémico, pero es más notable entre niños de la calle que viven en Brasil, Camboya, India, México, Perú y Rusia (Carlini-Marlatt, 2003; NIDA, 2005).

México es un país altamente poblado con más de 110 millones de habitantes. Entre ellos, el 79.9% vive en áreas urbanas, 23.1% en comunidades rurales y, aproximadamente, 51 millones se encuentran por debajo de los 25 años de edad (INEGI, 2010). El mal uso de las sustancias volátiles se ha documentado en México desde 1960, con una investigación epidemiológica sistemática que comenzó en 1973. El uso del activo, una formulación con un alto contenido de tolueno, es distribuido por los traficantes de drogas en México. El activo, que en algunas ocasiones es tolueno puro, es considerado por los usuarios como menos dañino y que produce resacas más ligeras que otros disolventes (Lara y cols., 1998). Los usuarios comúnmente empapan un trapo con disolvente o vierten pegamento dentro de pequeñas botellas de plástico o bolsas para facilitar la inhalación de los vapores a través de la boca y la nariz. El trapo impregnado con el disolvente se conoce como “mona” y el verbo “monear” se utiliza como sinónimo de la intoxicación con disolventes volátiles. También se ha reportado que los niños humedecen sus mangas con “thinner”, para hacer más fácil la inhalación de los vapores, al mantener sus mangas cerca de la nariz y boca (Gutiérrez y Vega, 1995).

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Adicciones (ENA, 2008), los inhalables ocupan el tercer lugar de las drogas que más se consumen en México, sólo por debajo de la cocaína y la mariguana. Además, su consumo aumentó de 4.6 a 5.2% desde el 2002. Por grupos de la población, el consumo de drogas ilegales es mayor en los hombres (en una

proporción de 4.6 hombres por cada mujer). Sin embargo, el índice de crecimiento es mayor en las mujeres, entre las cuales el consumo de drogas ilegales se duplicó, aumentando de 1% en 2002 a 1.9% en 2008, mientras que el consumo en hombres solamente se incrementó de 8 a 8.8%.

Los disolventes producen distintos efectos, temporales o permanentes, dependiendo de los constituyentes químicos, susceptibilidad, concentración y duración de la exposición. Sin embargo, algunos efectos son comunes, incluyendo irritación de vías respiratorias, alteraciones en el juicio, temblor, marcha inestable, visión borrosa y deterioro de la memoria. También son frecuentes: dolores de cabeza, mareo, zumbido auditivo y debilidad muscular. Concentraciones muy altas pueden producir anestesia, pérdida de conciencia e incluso la muerte (Brouette y Anton, 2001; Flanagan e Ives, 1994; Lobo, 2004; Sharp y cols., 2008; White y Proctor, 1997; Williams y cols., 2007).

1.3.1. MODELOS ANIMALES DE EXPOSICIÓN A DISOLVENTES

Para el estudio de los efectos de los disolventes, se utilizan modelos animales, los cuales imitan las condiciones en las que los humanos entran en contacto con estas sustancias. Estos pueden dividirse en dos categorías:

- a) Los que imitan la exposición ocupacional: en este tipo de modelos, los animales son expuestos a bajas concentraciones de disolventes (<4000 ppm), durante largos periodos de tiempo (varios días o semanas), desde 6 hasta 18 horas cada vez (Bukowski, 2001; Ritchie y cols., 2001).
- b) Los que imitan los episodios de abuso: en situaciones de abuso, la exposición a los disolventes dura unos pocos minutos (<10 min) e involucra altas concentraciones (>6000 ppm).

En estos experimentos, se utilizan cámaras de exposición estáticas o dinámicas para administrar los vapores de los disolventes. Los sistemas estáticos son relativamente simples y baratos, en donde el animal se coloca junto con una concentración fija de disolvente, dentro de una cámara sellada durante un periodo de tiempo específico. El disolvente es inyectado sobre un papel filtro dentro de la cámara y distribuido por un ventilador montado en la tapa.

Los sistemas dinámicos se utilizan para minimizar la acumulación de CO₂ y pueden utilizarse para exposiciones de larga duración. En este tipo de sistemas, se bombea un flujo de aire junto con una concentración determinada del disolvente dentro de la cámara (Bowen y Balster, 1998).

2. DISOLVENTES

2.1. TOLUENO

2.1.1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Las propiedades fisicoquímicas del tolueno (Fig. 1), se muestran en la tabla 3:

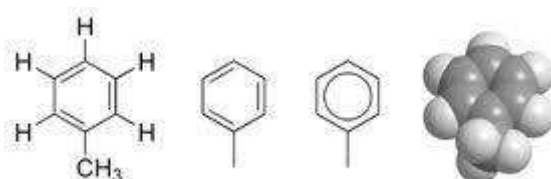


Figura 1. Estructura química del tolueno, metilbenceno, fenilmetano, toluol, metilbenzol, monometilbenceno.

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas del tolueno (ATSDR, 2000).

| | |
|-----------------------------|--|
| Descripción | Líquido incoloro de olor parecido al benceno |
| Fórmula molecular | C ₇ H ₈ |
| Peso molecular | 92.14 g/mol |
| Densidad | 0.8669 g/ml a 20 °C |
| Punto de ebullición | 110.6 °C |
| Punto de fusión | -95 °C |
| Presión de Vapor | 28.4 mmHg a 25 °C |
| Solubilidad | Soluble en solventes orgánicos |
| Factor de Conversión | 1ppm = 3.75 mg/m ³ |

2.1.2. USOS

El tolueno es utilizado como disolvente de pinturas, adhesivos, tintas y agentes limpiadores (Arlie-Soborg, 1992), para la síntesis de benceno (IARC, 1988) y de trinitrotolueno (TNT). También se añade a la gasolina en una mezcla BTX (benceno, tolueno y xileno) para mejorar el octanaje (EPA, 1990a). Alguna vez fue utilizado como agente antihelmíntico para tratar la anquilostomiasis (Krinsky, 1980).

2.1.3. FARMACOCINÉTICA

El tolueno es absorbido fácilmente a través de los pulmones, del tracto gastrointestinal y por la piel en una menor proporción. Después de ser absorbido, este disolvente se distribuye mediante su unión con células y proteínas plasmáticas. Autopsias en humanos expuestos a tolueno indican que el disolvente absorbido se distribuye hacia

tejidos ricos en lípidos y altamente vascularizados como el cerebro (Paterson y Sarvesvaran, 1983). El tolueno se metaboliza en el hígado, convirtiéndose en o- y p-cresol y en ácido hipúrico. El tolueno se elimina sin cambios mediante la respiración en un 7-20% aproximadamente y en forma de ácido hipúrico por la orina en un 75-80%.

2.2. XILENO

2.2.1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

El xileno, también llamado dimetil-benceno, metil-tolueno, xilol, se puede encontrar como 3 isómeros: orto, meta y para (Fig. 2). Sus propiedades fisicoquímicas se muestran en la tabla 4.

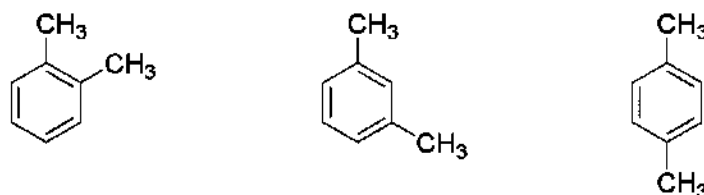


Figura 2. Estructura química del orto- meta- y para-xileno.

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas del xileno (ATSDR, 2007).

| | |
|-----------------------------|---|
| Descripción | Líquido incoloro de aroma dulce |
| Fórmula molecular | C_8H_{10} |
| Peso molecular | 106.2g/mol |
| Densidad | 0.88 g/cm ³ (o-); 0.864 g/cm ³ (m-); 0.861 g/cm ³ (p-) a 20 °C |
| Punto de ebullición | 144.5 °C (o-); 139.1 °C (m-); 138.3 °C (p-) |
| Punto de fusión | -25.2 °C (o-); -47.8 °C (m-); 13.2 °C (p-) |
| Presión de Vapor | 6.61 mmHg (o-); 8.29 mmHg (m-); 8.84 mmHg (p-) a 25 °C |
| Solubilidad | Insoluble en agua; miscible con alcohol, éter y otros solventes orgánicos. |
| Factor de Conversión | 1 ppb = 4.34 µg/m ³ |

2.2.2. USOS

Los xilenos son utilizados principalmente para operaciones industriales internas como disolventes e intermediarios en reacciones sintéticas. El m-xileno es el químico intermediario en la producción de ácido isoftálico, el cual es utilizado en la manufactura de poliéster. El o-xileno y el p-xileno son utilizados como componentes de insecticidas (HSDB, 2007; Lewis, 2001).

Actualmente, las mezclas de xileno producidas contienen aproximadamente 44% de m-xileno, 23% de p-xileno, 10-15% de o-xileno y 6-10% de etilbenceno (HSDB, 2007).

2.2.3. FARMACOCINÉTICA

Estudios en humanos y en animales han demostrado que los xilenos se absorben bien por vía oral y pulmonar. Aproximadamente el 60% del xileno inspirado y el 90% del ingerido se absorbe. La absorción del xileno también ocurre por vía cutánea, pero en un grado mucho menor que las vías pulmonar y oral. Después de la absorción, el xileno se une a proteínas séricas y es distribuido rápidamente mediante la circulación sistémica. El xileno se acumula en gran medida en tejido adiposo. Los tres isómeros del xileno son metabolizados principalmente mediante la oxidación de un grupo metilo y conjugándose con glicina para producir ácido metilhipúrico. En humanos puede ocurrir hidroxilación aromática del xileno para formar xilenol. Menos del 2% de la dosis absorbida se excreta en la orina como xilenol. El 95% del xileno absorbido es excretado por la orina en forma de ácido metilhipúrico y el 5 % restante se excreta sin cambio alguno por la respiración.

2.3. MECANISMOS CELULARES DE ACCIÓN

2.3.1. EFECTOS SOBRE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS

En 1998, Cruz y cols. estudiaron los efectos del tolueno sobre la función de los receptores para N-metil-D-aspartato (NMDA) y no-NMDA utilizando receptores recombinantes expresados en ovocitos de *Xenopus* y encontraron que este disolvente produce una inhibición rápida, reversible y casi completa de las corrientes catiónicas entrantes a través de receptores NMDA de distinta composición.

Más tarde en 2000, el mismo grupo de investigadores estudió los efectos de otros disolventes de abuso comunes (benceno, m-xileno, etilbenceno, propilbenceno, TCE y fluorotil) sobre la función de los mismos receptores NMDA expresados en ovocitos de *Xenopus* y encontraron que todos los alquilbencenos y el TCE producen una inhibición reversible y dependiente de la dosis de las corrientes inducidas por NMDA.

2.3.2. EFECTOS SOBRE RECEPTORES GABA Y GLICINA

En 2000, Beckstead y cols. evaluaron la participación de los receptores GABA_A y glicina como posibles blancos moleculares de los disolventes de abuso. Tras estudiar rebanadas de hipocampo y la expresión de receptores recombinantes en ovocitos, estos autores encontraron que el tolueno, el tricloroetileno y el TCE aumentaban de forma reversible las corrientes inhibitorias mediadas por el receptor GABA_A en concentraciones de ~0.2-0.9 mM. En este estudio se analizaron los efectos sobre los receptores GABA_A del subtipo $\alpha 1\beta 1$ y sobre el receptor homomérico a glicina $\alpha 1$. 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, estos hallazgos son similares a lo reportado con los receptores NMDA.

Más tarde en 2002, Ito y cols. observaron un incremento del 28% en la unión de t-butil-biciclofosfototionato, un ligando del sitio de unión de la picrotoxina de los receptores GABA_A, en la capa molecular de cerebelo de ratas expuestas a altas concentraciones de m-xileno (2000 ppm), 4 horas al día por 5 días. Estos resultados sugieren que altas concentraciones de m-xileno en el cerebelo incrementan la función del receptor GABA_A. (Ito y cols., 2002).

2.3.3. EFECTOS SOBRE RECEPTORES NICOTÍNICOS

En 2002, Bale y cols. mostraron que el tolueno inhibe de manera reversible y no-competitiva diferentes subtipos de receptores nicotínicos neuronales de roedores expresados en ovocitos, y el efecto fue dependiente de la concentración y de la composición de las subunidades del receptor. El subtipo más sensible fue el $\alpha_4\beta_2$ y el menos sensible fue el $\alpha_4\beta_4$ con valores de CI₅₀ de 0.2 a 1.8 mM. Estos resultados fueron observados también en receptores nicotínicos humanos de los subtipos $\alpha_4\beta_2$, $\alpha_3\beta_2$ y α_7 expresados en ovocitos.

2.3.4. EFECTOS SOBRE RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS

Lopreato y cols., en 2003, reportaron que el tolueno, el TCE y el tricloroetileno incrementan las corrientes iónicas activadas por la serotonina a través de los receptores ionotrópicos 5HT₃ expresados en ovocitos de *Xenopus laevis* a concentraciones entre 0.3 y 2 mM.

2.3.5. EFECTOS SOBRE SISTEMA DOPAMINÉRGICO

Las actividades que aseguran la supervivencia inmediata del individuo (comer y beber) y la supervivencia a largo plazo de las especies (actividad sexual y conducta materna) con percibidas, al menos en mamíferos, como conductas placenteras. El sistema neuronal implícito en estas conductas es el sistema mesolímbico dopaminérgico. Se denomina así al circuito formado por una red neuronal que involucra varios núcleos cerebrales entre los que destacan el área ventral tegmental, el núcleo accumbens y la corteza prefrontal. La mayoría de las drogas de abuso 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 (Abott, 1992).

El tolueno, al igual que otras drogas de abuso, aumenta los niveles de dopamina en el cerebro (Riegel y French, 1999). Altas concentraciones de dopamina en el sistema de

recompensa del cerebro están asociadas con efectos placenteros que pueden conducir al uso repetido de la droga y, finalmente, hacia la adicción. La exposición de 1000 a 2000 ppm de tolueno durante dos horas incrementa los niveles de dopamina en el núcleo estriado de rata (Stengard, 1994).

2.3.6. EFECTOS SOBRE RECEPTORES PURINÉRGICOS

La adenosina es uno de los principales neuromoduladores en el sistema nervioso central (Daval y cols., 1991). Los efectos neuromoduladores de la adenosina están promovidos por 2 subtipos principales de receptores purinérgicos P1, los A₁ y A₂. La activación del receptor A₁ resulta en una inhibición de la adenilato ciclasa, mientras que la activación del receptor A₂ resulta en su estimulación. Entre las acciones más destacadas de la adenosina y sus análogos estables sobre el SNC, se encuentran la habilidad para inhibir la liberación de aminoácidos excitatorios y otros neurotransmisores, así como los disparos espontáneos de las neuronas (Ribeiro, 1991).

Woodward y cols. (2004) estudiaron los efectos del tolueno (0.3 – 3 mM) sobre receptores purinérgicos (P2X) expresadas en células HEK 293. Estos receptores son canales iónicos activados por ATP y están ampliamente distribuidos en el sistema nervioso central y periférico. El tolueno potencia los receptores P2X2 y P2X4 nativos y los P2X2/3 y P2X4/6 heteroméricos.

2.3.7. EFECTOS SOBRE CANALES IÓNICOS ACTIVADOS POR VOLTAJE

La acción de los disolventes de abuso sobre los canales iónicos activados por voltaje también ha sido materia de investigación.

La primera evidencia que indicó una acción de los disolventes orgánicos sobre canales de sodio activados por voltaje fue reportada en 1985, cuando Hendry y cols. encontraron que los hidrocarburos aromáticos benceno, tolueno, etilbenceno y n-propilbenceno (0.1-0.3 mM) produjeron una inhibición reversible de estos canales en el axón gigante de calamar.

También se ha descrito que el tolueno inhibe canales de sodio cardiacos (Na_v1.5) expresados en ovocitos de *Xenopus* en una manera dependiente de la concentración. Debido a que los canales de sodio son responsables de la fase inicial del potencial de acción, se ha sugerido que este efecto puede estar relacionado con la aparición de arritmias cardiacas y muerte súbita por inhalación (Cruz y cols., 2003). El tolueno también inhibe los canales de sodio de músculo esquelético (Na_v1.4); sin embargo, los Na_v1.4 (CI₅₀ = 3 mM) son 10 veces menos sensibles que los Na_v1.5 (CI₅₀ = 300 μM) (Cruz y cols., 2003; Gauthereau y cols., 2005).

En otro estudio realizado por Tillar y cols. (2002), se encontró que el tolueno inhibe los canales de calcio sensibles al voltaje expresados en células de feocromocitoma en una forma reversible y dependiente de la dosis. Este efecto ocurre a concentraciones en el rango

milimolar que no comprometen la integridad de la membrana y son relevantes para el abuso de disolventes.

3. EFECTOS CONDUCTUALES

3.1. PROPIEDADES ESTÍMULO-DISCRIMINATIVAS

Para la evaluación de estas propiedades, se entrena a los animales a lo largo de varias sesiones para que discriminen entre los efectos de la administración de un fármaco y la de un vehículo. Después de recibir el fármaco de referencia, el animal aprende a presionar una palanca para obtener comida, mientras que después de la administración del vehículo la obtiene sólo cuando presiona la otra palanca. En este momento se prueba la sustancia en estudio con el fin de determinar si los animales perciben sus efectos como similares o diferentes a los del fármaco de entrenamiento. Si el fármaco de prueba produce un estímulo similar al de entrenamiento, se dice que lo sustituye y se asume que sus efectos son similares (Iversen e Iversen, 1981).

Los disolventes de abuso sustituyen al pentobarbital, al etanol y al oxazepam (Rees y cols, 1987). El tolueno sustituye parcialmente a la fenciclidina (Bowen y cols., 1999).

3.2. PROPIEDADES DE REFORZAMIENTO

Cuando un sujeto realiza una conducta que tiene como resultado un efecto placentero o “recompensa”, la conducta se refuerza; es decir, aumenta la probabilidad de que se repita (Nestler y cols., 2001).

Existen varios modelos experimentales para analizar el efecto reforzador de los disolventes:

- a) Autoadministración: En este modelo se coloca al animal con un catéter intranasal dentro de una cámara con dos palancas y se le enseña a asociar la administración de vapores de disolventes con la acción de presionar una palanca en particular. Se ha descrito que los monos *Rhesus* pueden autoadministrarse vapores de “thinner” o éter, llegando a exceder las 100 inhalaciones por día (Yanagita y cols., 1970).
- b) Preferencia espacial condicionada: Este modelo consiste en utilizar una cámara con dos compartimentos claramente distinguibles entre sí (cada uno con diferentes estímulos táctiles), donde se condiciona al animal para que asocie un compartimento con la administración de la droga y el otro con la administración del vehículo. En este modelo, el indicador usual de que se ha conseguido establecer la conducta de reforzamiento es el aumento del tiempo que el animal permanece en el compartimento previamente pareado con la droga (Stoleman, 1992). Se ha encontrado que los vapores de pegamento, en concentraciones de aproximadamente 10000 ppm, producen una preferencia espacial (Yavich-Zvartau, 1994).

c) Autoestimulación intracerebral: Consiste en implantar un electrodo en un área cerebral relacionada con el llamado “circuito de recompensa” (sistema mesolímbico-dopaminérgico). Los animales implantados se entrenan para asociar la acción de apretar una palanca con la obtención de un estímulo eléctrico intracraneal. Este estímulo activa el circuito de recompensa, lo que se asocia con un efecto placentero. Cuando a un animal se le administra una droga de abuso y se le expone a este modelo, se observa una disminución en el umbral del autoestímulo intracraneal, porque la droga sustituye al efecto encontrado con el estímulo eléctrico. Se ha encontrado que el tolueno y la bencina producen efectos de reforzamiento (Bespalov y cols., 2003).

3.3. EFECTOS SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA ESPONTÁNEA

El estudio de estos efectos se realiza en general en cajas de “campo abierto”. El registro de la ambulación y exploración puede ser visual o a través de celdas infrarrojas o circuitos que permiten contabilizar la actividad de los animales en un periodo determinado (Iversen-Iversen, 1981).

La inhalación de tolueno tiende a producir un perfil de efectos que van desde una excitación motora a bajas concentraciones (500-4000 ppm), hasta sedación, deterioro motor y anestesia a altas concentraciones (6000-15000 ppm) (Bowen y Balster, 1998; Yavich y cols., 1994).

También se han reportado curvas bifásicas dosis-respuesta para concentraciones agudas de TCE (500–14000 ppm) (Bowen y Balster, 1996; 1998; 2006; Warren cols., 2000; Wiley cols., 2002).

3.4. EFECTOS ANTICONVULSIVANTES

Se han reportado efectos protectores en contra de las convulsiones inducidas por varios agentes químicos. Específicamente, la exposición aguda a tolueno (1000-6000 ppm) inhibe la muerte y las convulsiones inducidas por NMDA en una manera dependiente de la concentración (Cruz et al, 2003). En otro estudio, Chan y colaboradores (2006) observaron que una sola inyección de tolueno (100-1000 mg/kg, iv) incrementa los umbrales de letalidad y de presentación de convulsiones inducidas por nicotina, NMDA, bicuculina y picrotoxina, pero no aquellas inducidas por estricnina. La inhalación de propilbenceno, etilbenceno, tolueno y m-xileno redujo el porcentaje de animales que presentaron convulsiones inducidas por PTZ (Gauthereau y Cruz, 2006); y el tolueno protegió además contra las convulsiones inducidas por electroshock (0.2-0.4 g/kg) (Silva-Filho y cols., 1992).

Por su parte, en 1984, Wood y cols., demostraron que la inyección de tolueno (0.2 - 0.4 mg/kg) y m-xileno (0.2-0.5 mg/kg) protegen en contra de las convulsiones inducidas por PTZ (200 mg/kg), un antagonista no competitivo de los receptores GABA_A.

3.5. EFECTOS ANSIOLÍTICOS

Existen reportes que muestran que los disolventes de abuso producen efectos ansiolíticos en diferentes modelos conductuales. En el modelo de Geller-Seifter, que consiste en inhibir una conducta previamente aprendida (como apretar una palanca para obtener una recompensa) mediante la aplicación de un estímulo aversivo (por ejemplo un choque eléctrico), los ansiolíticos benzodiazepínicos restauran la conducta e incrementan el número de choques que recibe el animal; lo mismo sucede con el tolueno (Geller y cols., 1983; Wood y cols., 1984).

Otro modelo muy utilizado para evaluar la ansiedad es el laberinto elevado en forma de cruz, el cual tiene dos brazos protegidos con paredes laterales y otros dos no protegidos o abiertos. Dado que los roedores tienen una aversión natural a los espacios abiertos, prefieren permanecer en los brazos cerrados. En este modelo, el tolueno y el TCE aumentan tanto el tiempo que los ratones permanecen en los brazos abiertos, como el número de entradas a estos brazos, lo cual se interpreta como efecto ansiolítico (Bowen y cols., 1996).

En otro estudio, se comparó el posible efecto ansiolítico del tolueno, el benceno, el TCE, el éter dietílico y el fluorotil en el modelo de “conducta defensiva de enterramiento”. Este modelo se basa en la tendencia innata de los roedores de enterrar estímulos que les son aversivos. En una caja se coloca un electrodo que, al tocarlo, produce un choque eléctrico. Entonces se evalúa el tiempo que el animal pasa enterrando el estímulo aversivo y el número de choques que recibe durante una prueba de 10 minutos; ambas respuestas son indicativas del nivel de ansiedad. En este modelo, todos los compuestos, excepto el fluorotil, tienen efectos ansiolíticos de acuerdo con el siguiente orden: tolueno > benceno > TCE > éter dietílico. Adicionalmente, el tolueno aumenta el número de choques que recibe el animal. (López-Rubalcava y cols., 2000).

3.6. EFECTOS SOBRE NOCICEPCIÓN

En un estudio comparativo, se evaluó el efecto de diversos disolventes del grupo de los hidrocarburos sobre la nocicepción, para ello se emplearon dos modelos:

- a) Pinzamiento de la cola: Se coloca una pinza en el último tercio de la cola del ratón y se registra el tiempo en que éste reacciona tratando de liberarse de la presión, ya sea mordiendo la pinza o con un latigazo de la cola. El tolueno tuvo un efecto pronociceptivo, mientras el TCE fue inactivo.
- b) Plancha caliente: Consiste en colocar un ratón en una superficie que se calienta a 53 ± 0.5 °C y posteriormente se registra la latencia de presentación de una respuesta característica; en este caso, lamerse las patas. Un incremento en la latencia de la respuesta se considera como un efecto antinociceptivo, mientras que una disminución es considerada como un efecto pronociceptivo. Los resultados indican

que el tolueno, el TCE, el ciclohexano y el etilbenceno poseen efectos pronociceptivos, no así el benceno ni el propilbenceno (Cruz y cols., 2001).

4. EFECTOS CRÓNICOS

4.1. ADICCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la adicción a las drogas es una enfermedad crónica del SNC que está caracterizada por una pérdida del control sobre el comportamiento, que conduce a la búsqueda e ingesta impulsiva de la droga y a recaídas incluso después de varios meses de abstinencia.

El diagnóstico clínico de la adicción también se define con base en el uso de sustancias psicoactivas durante largos periodos o de dosis mayores a las iniciales, ansiedad por la droga o intentos fallidos para detener su uso, continuar utilizando la droga a pesar de los efectos negativos en la vida profesional y social del individuo, tolerancia creciente, síndrome de abstinencia y el deseo de ingerir la droga para aliviar los síntomas (DSM-IV, 1995 American Psychiatric Society).

4.2. TOLERANCIA

Se define como tolerancia a la disminución del efecto de un fármaco en administraciones repetidas o a la necesidad de usar dosis cada vez mayores para obtener el efecto inicial (Goudi y Emmet-Oglesby, 1989).

En 1984, Hinman reportó el desarrollo de tolerancia en dos conductas específicas: la ataxia y el número de *rearings* (conductas exploratorias dirigidas al aire). La exposición aguda a tolueno (2500 – 15000 ppm / 15 min) disminuyó el número de *rearings* y aumentó la ataxia. Sin embargo, en animales expuestos repetidamente a tolueno no se observaron estos efectos.

4.3. SENSIBILIZACIÓN

Se conoce como sensibilización o tolerancia inversa el fenómeno que se produce cuando la administración repetida de la misma dosis de fármaco no disminuye el efecto, sino que lo intensifica (Goudi y Emmet-Oglesby, 1989).

Este fenómeno se ha estudiado en ratas a las que se les colocan cánulas de microdiálisis para vigilar la concentración extracelular de dopamina (Kalivas y Duffy, 1990). La reacción inicial a la administración de 10 mg/kg de cocaína por vía i.p., es un aumento de las concentraciones de dopamina. Después de varias inyecciones diarias, el incremento en la liberación de dopamina aumenta de manera significativa, comparado con el primer día, al igual que la respuesta relacionada con el comportamiento.

Existen diversos estudios en que se reporta una sensibilización a los efectos producidos por el tolueno. Por ejemplo, Arito y cols. (1985) administraron tolueno por vía i.p. aguda y con una frecuencia crónica y observaron diferentes conductas como la actividad locomotora y la ingesta de líquidos. En todos los casos, la administración crónica del tolueno producía efectos mayores que la administración aguda.

4.4. DEPENDENCIA

La dependencia física se describe como un estado adaptativo que se manifiesta cuando se deja de administrar la droga y que se caracteriza por la presentación de un síndrome de abstinencia específico.

Sólo se dispone de un par de reportes sobre la dependencia física producida por la administración repetida de disolventes como el TCE y el tolueno. En el primer trabajo se expusieron ratones de 500 a 4000 ppm de TCE de manera continua durante cuatro días. La supresión de la administración del disolvente produjo convulsiones inducidas al sujetar a los ratones por la cola.

La re-exposición de los animales a TCE durante el periodo de abstinencia redujo la frecuencia y la gravedad de las convulsiones (Páez-Martínez y cols., 2003)

Es importante señalar que la exposición a tolueno, así como la administración de etanol, pentobarbital y midazolam, suprimió también las convulsiones producidas por la abstinencia a TCE (Evans y Balster, 1993). Posteriormente, en un trabajo similar, Wiley y cols. (2003) reportaron que la administración repetida a tolueno (250 ppm/4días) produce también un síndrome de abstinencia que se manifiesta como crisis convulsivas.

4.5. EFECTOS SOBRE EL APRENDIZAJE Y LA MEMORIA

Varios exámenes neuropsicológicos y testimonios de individuos que hacen un mal uso de los disolventes, indican que la inhalación crónica de estas sustancias produce déficits en el aprendizaje y en la memoria (Filley cols., 2004; Miller cols., 2002; Rosenberg, 2002). Existe evidencia sólida de que pintores y trabajadores de imprentas que se exponen de manera ocupacional a los disolventes, tienen desempeños cognitivos bajos, en comparación con sujetos control (Bockelmann y cols., 2004; Chouaniere y cols., 2002; Kaukiainen y cols., 2002; Lee y cols., 2003; Saddik y cols., 2005; Wood y Lioffi, 2005).

Existen muy pocos reportes donde se analizó si los disolventes deterioran el aprendizaje y la memoria en modelos animales. Entre aquellos disponibles, la mayoría se enfoca en estudios crónicos de administraciones repetidas a bajas concentraciones. Por ejemplo, ratas expuestas a 80 ppm de tolueno (6h/día, 5 días/semana durante 4 semanas), o a “thinner” (60-70% tolueno), 1 h diaria durante 45 días mostraron un deterioro significativo en la adquisición y retención de información en el laberinto de agua de Morris (Baydas y cols., 2005; Von Euler y cols., 2000).

4.6. EFECTOS SOBRE LA ALIMENTACIÓN

Existen diversos estudios donde se ha demostrado que la exposición crónica a disolventes altera la ingesta de alimentos.

En 1984, Miyagawa y cols., encontraron que la administración intraperitoneal (200-800 mg/kg) e intravenosa (20-40 mg/kg) de tolueno, así como la exposición por inhalación de 1650-3300 ppm, inducía un aprendizaje condicionado de aversión al sabor en ratas. Hallazgos similares fueron reportados por Bushnell y Peele (1988), quienes observaron que la inhalación de p-xileno (200-1600 ppm/4 h) redujo la ingesta de sacarina, con una aversión máxima a 800 y 1600 ppm.

Más tarde, en 2009, Gauthereau y cols., observaron una disminución en la ingesta de alimento y en el peso corporal, en ratas expuestas a benceno de manera crónica (6000 ppm/30 min, dos veces al día durante 8 semanas).

5. EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN A DISOLVENTES DURANTE EL EMBARAZO

Niveles altos de exposición a disolventes durante el embarazo, pueden conducir a muerte perinatal y hay reportes de que los neonatos que sobreviven muestran teratogenicidad morfológica. Al nacer, los infantes afectados fueron típicamente prematuros y/o de crecimiento retardado con microcefalia y dismorfología facial severa (ojos hundidos, cara pequeña, orejas en una posición más baja y mandíbula pequeña), así como yemas de los dedos redondeadas y uñas pequeñas (Arnold y cols., 1994; Pearson y cols., 1994; Wilkins-Haug, 1997; Wilkins-Haug y Gabow, 1991).

El término síndrome fetal por disolvente ha sido adoptado para describir esta gama de efectos morfológicos y conductuales, siguiendo el modelo de los desórdenes del síndrome alcohólico fetal (Jones y Balster, 1998).

6. NEUROTRANSMISIÓN Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El SNC está formado por el encéfalo y la médula espinal. Es una combinación de sistemas neurales interrelacionados que regulan sus actividades propias y de otros sistemas en una forma compleja y dinámica, en gran medida gracias a la neurotransmisión química intercelular (Bloom, 1996; Nestler y cols., 2001; Cooper y cols., 2003).

6.1. NEUROTRANSMISORES

Los impulsos nerviosos desencadenan reacciones en músculo liso, cardíaco y estriado, glándulas exocrinas y neuronas postsinápticas, mediante la liberación de neurotransmisores químicos específicos. En algunos casos, los neurotransmisores suelen tener efectos mínimos en las propiedades bioeléctricas, aunque también activan o inactivan mecanismos bioquímicos necesarios en las reacciones de otros circuitos; o bien, la acción de un neurotransmisor puede variar según el contexto de los sucesos sinápticos que se están produciendo: intensificar la excitación o la inhibición, en vez de operar para imponer una excitación o una inhibición directas (Cooper y cols., 2003).

De manera clásica, los efectos electrofisiológicos de la acción de un neurotransmisor encajan en dos categorías principales: 1) excitación, en la cual se abren los canales iónicos para permitir la entrada neta de iones de carga positiva, lo cual da por resultado despolarización y 2) inhibición, en la cual los movimientos de iones selectivos generan hiperpolarización.

Los neurotransmisores que median de manera global la transmisión sináptica en el cerebro son aminoácidos, GABA y glutamato, como principales neurotransmisores inhibitorio y excitador, respectivamente.

6.1.1. GLUTAMATO

Este aminoácido se encuentra en concentraciones muy altas en el encéfalo y tiene efectos excitatorios muy poderosos en las neuronas de casi todas las regiones del SNC.

Los receptores ionotrópicos glutamatérgicos se clasifican de acuerdo a los agonistas que de manera selectiva activan cada subtipo y se dividen en general en receptores para N-metil-D-aspartato (NMDA) y los que no corresponden a esta categoría (no-NMDA). Estos últimos incluyen los receptores para el ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionico (AMPA) y los del ácido kaínico (KA).

6.1.2. GABA

El ácido γ -aminobutírico, que es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC de mamíferos, fue identificado como componente químico peculiar del encéfalo en 1950, sin embargo, no se identificó de inmediato su capacidad y potencia como depresor del SNC.

Se ha dividido a los receptores de GABA en tres tipos principales:

- 1) GABA_A: Es canal iónico de cloruro regulado por ligando (receptor ionotrópico).
- 2) GABA_B: Es un receptor acoplado a proteína G (metabotrópico). Los receptores presinápticos de este tipo actúan como autorreceptores e

inhiben la liberación de GABA. Se conocen 2 subtipos de receptores GABA_B, 1_a y 1_b.

- 3) GABA_C: Es un receptor ionotrópico que se encuentra en la retina, médula espinal, tubérculo cuadrigémino superior e hipófisis. (Jhonston, 2002; Jhonston y cols., 2003).

6.1.2.1. RECEPTOR GABA_A

Los receptores GABA_A (figura 3), son los receptores de neurotransmisores inhibitorios predominantes en el SNC de vertebrados. Cuando son activados, el canal de cloruro (Cl⁻) del receptor se abre, conduciendo a una entrada de Cl⁻ y por lo tanto a una hiperpolarización.

Estos receptores son hetero-oligómeros pentaméricos formados por distintas subunidades. Basadas en una secuencia homóloga, estas subunidades han sido agrupadas en diferentes clases designadas: α (1-6), β (1-4), γ (1-3), δ, ε, π (Hevers y Luddens, 1998), y θ (Bonnert y cols., 1999). Para activar el receptor, son necesarias dos moléculas de GABA, cuyos sitios de unión se localizan en la región extracelular, en la interfase de las subunidades α y β (Kash y cols., 2004).

El receptor GABA_A posee una variedad de sitios de unión alostéricos, a través de los cuales distintos fármacos pueden modular la corriente de Cl⁻ mediada por GABA. Se sabe que las benzodiazepinas y los barbitúricos potencian alostéricamente las corrientes mediadas por GABA (Hevers y Luddens, 1998). En cambio, se sabe que los fármacos convulsivantes como la picrotoxina (PTX), TBPS [(3S) tert-butylbicyclophosphorothionate] y varios insecticidas deprimen las corrientes mediadas por GABA (Bloomquist, 1996).

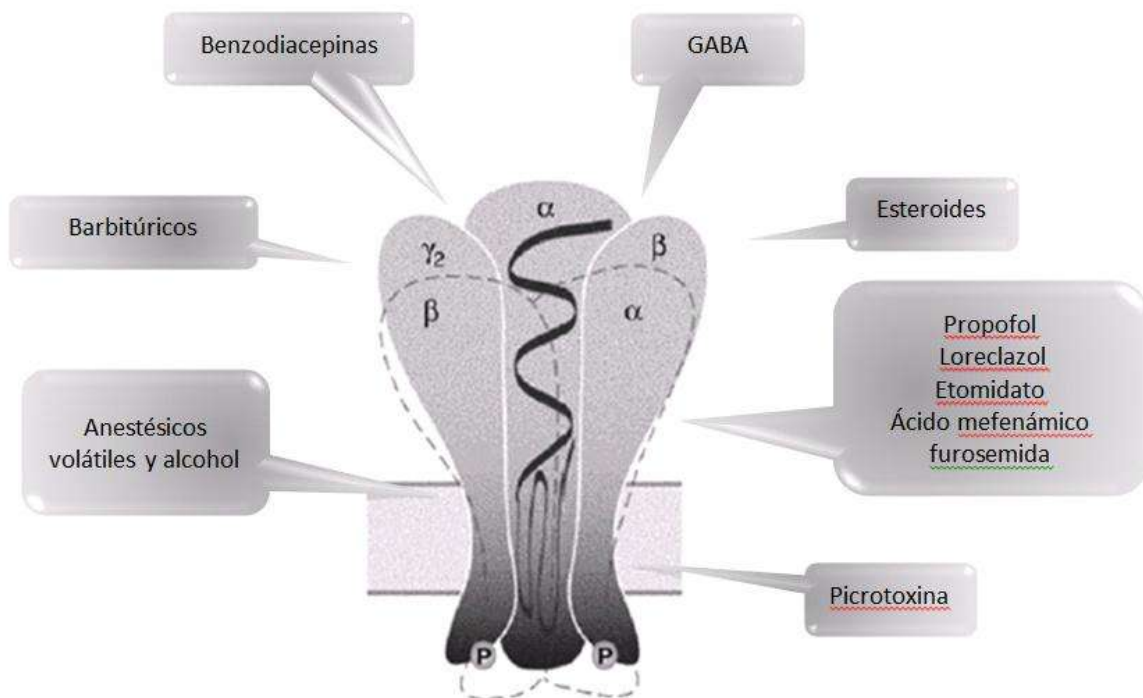


Figura 3. Representación esquemática del receptor GABA_A, ilustrando su estructura pentamérica y los diferentes sitios de acción de distintos fármacos que interactúan con este receptor. La P representa un sitio de fosforilación (Tomado y modificado de Enna, 2007).

7. CONVULSIONES

El término convulsión se refiere a un trastorno transitorio del comportamiento, causado por la activación desordenada, sincrónica y rítmica de poblaciones enteras de neuronas cerebrales (McNamara, 1994).

Se considera que las convulsiones se originan en la corteza cerebral y no en otras estructuras del SNC, como tálamo, tallo encefálico o cerebelo. Las manifestaciones del comportamiento en las crisis convulsivas dependen de las funciones que ejerza normalmente el sitio de la corteza donde se originan las convulsiones. Por ejemplo, la crisis convulsiva que afecta la corteza motora se relaciona con sacudidas crónicas de la parte del cuerpo controlada por esta región de la corteza. Una convulsión parcial simple se vincula con una preservación del conocimiento o estado de conciencia (20 a 60 s). Una convulsión parcial compleja conlleva un trastorno del conocimiento (30 s a 2 min). La mayor parte de las convulsiones parciales complejas se originan en el lóbulo temporal. Son ejemplos de convulsiones generalizadas las crisis de ausencia y las convulsiones tónico-clónicas.

Los estudios farmacológicos pusieron en claro que los antagonistas del receptor GABA_A o los agonistas de los diferentes subtipos de receptores glutamatérgicos (NMDA, AMPA o ácido kaínico), desencadenan convulsiones en animales de experimentación *in vivo*. A la inversa, los agentes farmacológicos que estimulan la inhibición sináptica mediada por el GABA inhiben las convulsiones en diversos modelos. Los antagonistas de receptores glutamatérgicos bloquean también las convulsiones en varios modelos, entre ellas las evocadas por electrochoque y por convulsivantes químicos como el pentilentetrazol (PTZ) (McNamara, 1994).

7.1. AGENTES PROCONVULSIVANTES

Las convulsiones experimentales utilizadas con mayor frecuencia en el cernimiento primario de nuevos fármacos antiepilépticos, son aquellas inducidas mediante electrochoque y pentilentetrazol (PTZ) (Krall y cols., 1978; Löscher y Schmidt, 1988; Purpura y cols., 1972; Swinyard, 1969). El tipo y severidad de las convulsiones inducidas dependen de la intensidad del estímulo eléctrico, así como la dosis y vía de administración del PTZ (Koella, 1985; Swinyard, 1949; 1952; 1969; 1972; Woodbury y Davenport, 1952).

7.1.1. PENTILENTETRAZOL

Se tiene conocimiento desde hace varios años de que el PTZ inhibe los canales de Cl⁻ activados por GABA (Macdonald y Barker, 1978). Estudios iniciales de unión de

radioligandos, sugirieron que el sitio de acción del PTZ era el sitio de las benzodiazepinas del receptor GABA_A (Rehavi y cols., 1982). Sin embargo, estudios subsecuentes indicaron que el sitio de acción del PTZ era probablemente el sitio de unión de la PTX (Ramamjaneyulu y Ticku, 1984; Squires y cols., 1984). Basándose en estos estudios de “binding”, hoy en día es aceptado que el PTZ actúa en el sitio de unión de la PTX del receptor GABA_A.

El PTZ es un agente utilizado con frecuencia en modelos de epilepsia, que produce diversos signos convulsivos, tales como: mioclonias, cola de Straub, convulsiones clónicas y convulsiones clónico-tónicas (Yonekawa y cols., 1980).

a) Mioclonia: Se define como movimientos involuntarios de un grupo de músculos que se presentan junto con el fenómeno de cola de Straub.

b) Convulsión clónica: Se manifiesta por espasmos clónicos seguidos de estupor o una postura inusual.

c) Convulsión clónico-tónica: Es una extensión, generalmente letal, de la convulsión clónica. (Yonekawa y cols., 1980)

II. JUSTIFICACIÓN

Los disolventes volátiles forman parte de la formulación de diversos productos de uso comercial, su posesión es legal, son baratos y la inhalación de sus vapores no se considera una conducta de riesgo, lo cual los convierte en drogas de abuso de fácil acceso. El mal uso de estas sustancias constituye un problema de magnitud mundial que repercute en la salud pública, no sólo porque afecta a grandes grupos sociales, muchos de ellos marginados, sino porque se presenta a edades muy tempranas y provoca graves secuelas para la salud.

Durante las últimas décadas, varios estudios han indicado que estas sustancias comparten un perfil farmacológico con los depresores clásicos del SNC como el etanol, benzodiazepinas y barbitúrico. De acuerdo con estudios *in vitro*, se ha observado que el tolueno y el xileno aumentan la actividad de los receptores GABA_A y protegen contra las convulsiones inducidas por pentilentetrazol.

A pesar de la gran incidencia en el mal uso de las sustancias volátiles, muy pocos estudios han investigado las consecuencias a largo plazo que estas sustancias tienen sobre el SNC.

Con base en lo anterior, proponemos que las exposiciones repetidas a tolueno y a xileno provocarán una pérdida del efecto anticonvulsivante y alteraciones en el peso corporal y en la ingesta de alimento y de agua por parte de los ratones.

III. HIPÓTESIS

La exposición repetida a tolueno y a xileno producirá una disminución del efecto protector contra las convulsiones inducidas por pentilentetrazol, así como alteraciones en la ingesta de agua y alimento y en el peso corporal de ratones.

IV. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Estudiar los efectos de la exposición aguda, sub-aguda y crónica a tolueno y a xileno en ratones CD1.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar los efectos de la exposición aguda a xileno (4000 y 6000 ppm) sobre las convulsiones inducidas por PTZ en ratones.
2. Determinar el efecto de la exposición subaguda (1 semana) a tolueno (4000 ppm) y a xileno (6000 ppm) sobre las convulsiones inducidas por PTZ en ratones.
3. Estudiar el efecto de la exposición crónica a xileno (6000 ppm/60días) sobre las convulsiones inducidas por PTZ en ratones.
4. Comparar el efecto de la exposición crónica (6000 ppm/60días) con la exposición aguda y subaguda (1 semana) a xileno sobre las convulsiones inducidas por PTZ en ratones.
5. Analizar los efectos de la exposición crónica a xileno (6000 ppm/60 días) sobre la ingesta de alimento, líquidos y sobre el peso corporal de los ratones.

V. METODOLOGÍA

1. ANIMALES

Se emplearon ratones CD1 macho con un peso de entre 25 y 35g, los cuales fueron colocados en cajas individuales y se mantuvieron con un ciclo de 12h luz/oscuridad y a temperatura ambiente (20-25°), con libre acceso al agua y alimento.

2. SUSTANCIAS

Los disolventes de abuso utilizados fueron tolueno y xileno a concentraciones de 4000 y 6000 ppm, respectivamente, y como agente proconvulsivante se utilizó PTZ, el cual

se disolvió en solución salina y fue administrado por vía intraperitoneal (i.p.) a una dosis de 60 mg/kg.

3. EXPOSICIÓN A DISOLVENTES

Se utilizó una cámara de exposición estática con un volumen de 29 l (figura 4). La cámara consta de una jarra cromatográfica con una tapa de acrílico que cierra herméticamente. La tapa tiene un puerto de inyección por donde se administra el disolvente y un ventilador en la parte interior, cuyas aspas proyectan hacia el interior. Debajo del ventilador, se encuentra una malla metálica en donde se coloca un papel filtro, el cual recoge el disolvente para permitir su distribución homogénea en la cámara.

Para calcular el volumen de disolvente necesario para obtener la concentración deseada dentro de la cámara de exposición, se utilizó la ecuación de Nelson (1971).

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

Dónde:

V = volumen de disolvente necesario para obtener la concentración deseada (ml).

PM = Peso molecular del disolvente (g/mol).

C_{ppm} = Concentración deseada (ppm).

V_s = Volumen de la cámara de exposición (l).

d = Densidad del disolvente.

P = Presión atmosférica (atm).

R = Constante de los gases ideales ($\frac{l \cdot atm}{mol \cdot K}$).

T = Temperatura ambiente (K).

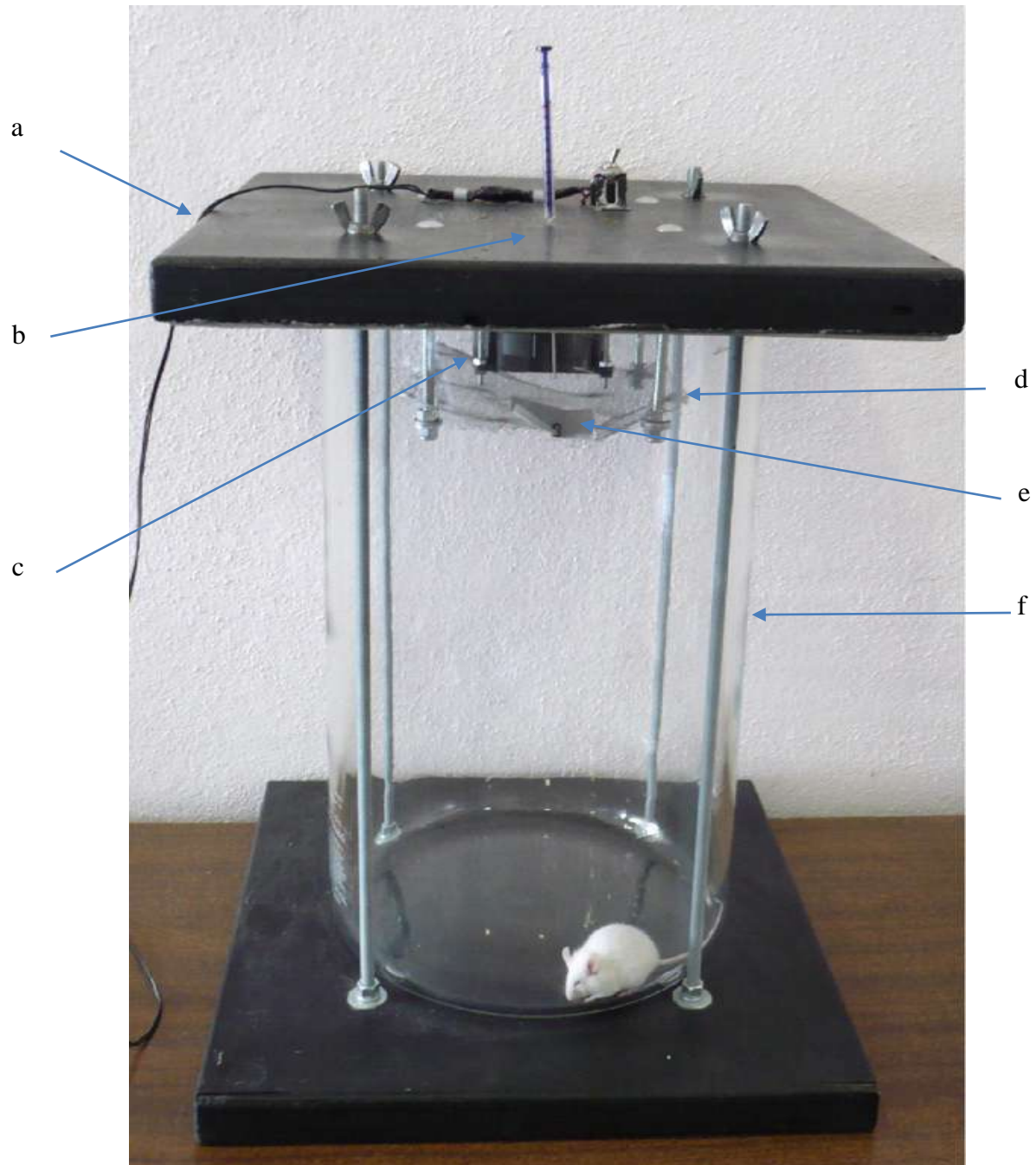


Figura 4. Cámara de exposición estática a disolventes. Tapa (a), puerto de inyección (b), ventilador (c), malla metálica (d), papel filtro (e), jarra de cristal (f).

3.1. EXPOSICIÓN AGUDA

Los animales fueron colocados dentro de la cámara de exposición de manera individual y posteriormente se expusieron a tolueno (4000 ppm), xileno (6000 ppm) o aire durante 30 min, una vez transcurrido ese tiempo, se retiró al animal de la cámara de exposición y se administró PTZ vía i.p.; posteriormente, el animal fue colocado en una segunda cámara y expuesto nuevamente durante 30 min a tolueno, a xileno o a aire; periodo durante el cual se observó la latencia para la presentación de signos convulsivos así como el número de episodios y el porcentaje de animales que presentaron convulsiones.

3.2. EXPOSICIÓN SUBAGUDA

Los animales fueron expuestos a tolueno (4000 ppm), a xileno (6000 ppm) o a aire durante 30 min, 2 veces al día por 7 días. El día 8, los animales fueron evaluados conforme al protocolo de la exposición aguda.

3.3. EXPOSICIÓN CRÓNICA

Los animales fueron expuestos a xileno (6000 ppm) o aire durante 30 min, 2 veces al día por 60 días. El día 61, los animales se evaluaron conforme al protocolo de exposición aguda. Durante este periodo, se llevó un registro semanal del peso corporal, gramos de alimento consumido y mililitros de agua consumida por los ratones.

4. VARIABLES EVALUADAS

Se evaluó el porcentaje de animales que presentaron convulsiones clónicas (CC) y clónico tónicas (CCT), así como la latencia para la presentación de estos signos convulsivos y el número de episodios.

Además, durante la exposición crónica, se llevó un registro semanal del peso corporal, gramos del alimento consumido y mililitros de agua consumida por los animales.

5. ANÁLISIS DE DATOS

Los porcentajes de animales que presentaron convulsiones entre los distintos grupos fueron comparados utilizando la prueba exacta de Fisher.

Se utilizó la prueba t-student para comparar la cantidad de alimento y agua consumidos, así como el número de CC y CCT y la latencia para la presentación de dichos signos convulsivos.

VI. RESULTADOS

1. EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN AGUDA A DISOLVENTES

La figura 5 muestra el efecto de la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm) sobre la latencia para la presentación de convulsiones clónicas (CC). Como se puede observar, ambos disolventes mostraron un efecto anticonvulsivante, ya que aumentaron la latencia para la presentación de CC de manera significativa en comparación con su respectivo grupo control.

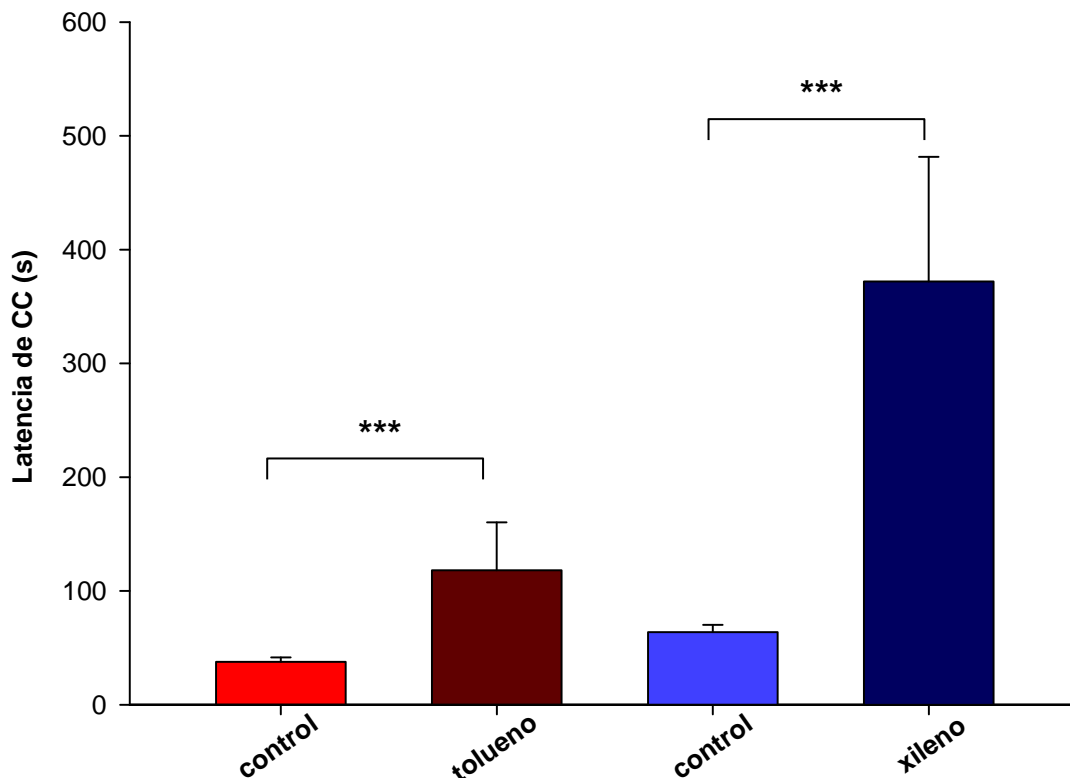


Figura 5. Efecto de la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm) sobre la latencia para la presentación de convulsiones clónicas (CC). *** $p < 0.001$, prueba t-student.

El número de CC en animales expuestos de manera aguda a tolueno o a xileno fue comparado con su grupo control (Fig. 6), observándose una disminución significativa en el número de episodios grupo expuesto a xileno (6000 ppm).

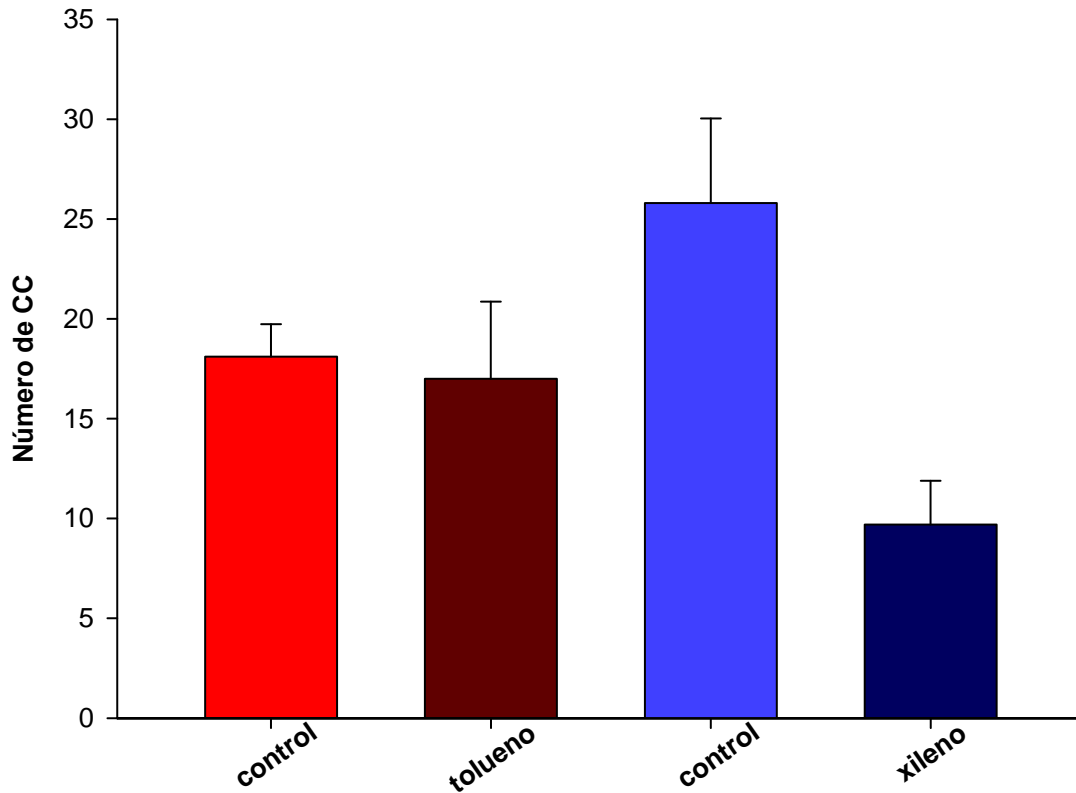


Figura 6. Efecto de la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm) sobre el número de convulsiones clónicas (CC). ** $p < 0.01$, prueba t-student.

En la figura 7, se muestra la latencia para la presentación de convulsiones clónico-tónicas (CCT). La exposición aguda a ambos disolventes produjo un efecto protector, ya que se incrementó la latencia de manera significativa al ser comparados con su respectivo grupo control.

El número de CCT de cada grupo expuesto a los disolventes fue registrado y comparado con su respectivo grupo control (Fig. 8). Ambos disolventes mostraron un efecto anticonvulsivante, al disminuir de manera significativa el número de episodios.

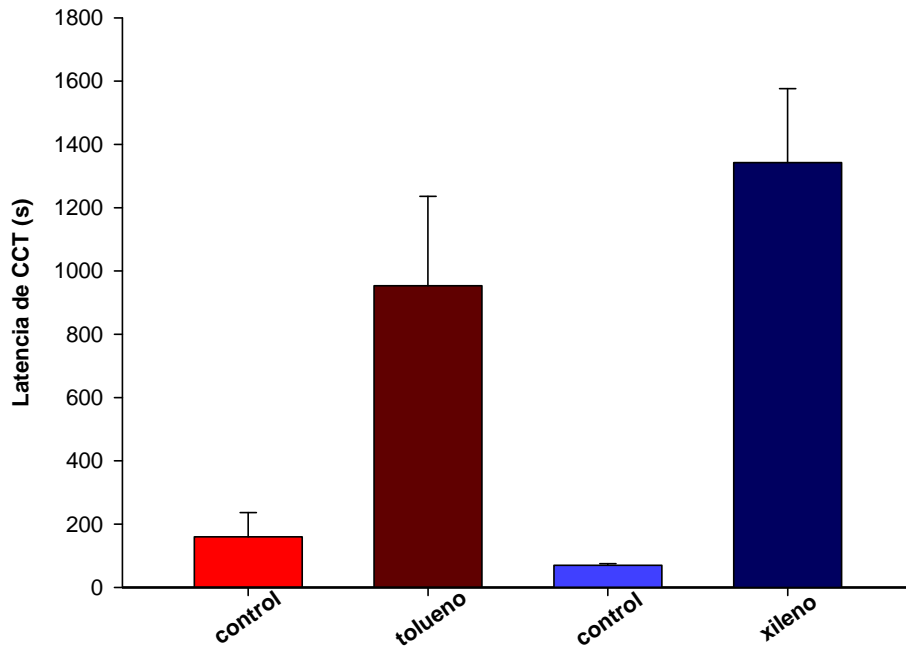


Figura 7. Efecto de la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm) sobre la latencia de presentación de convulsiones clónico-tónicas (CCT). *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$, prueba t-student.

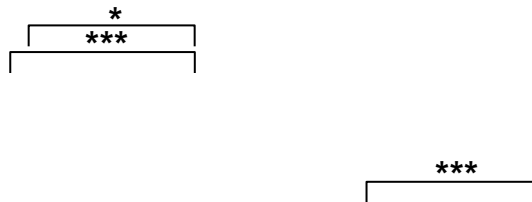
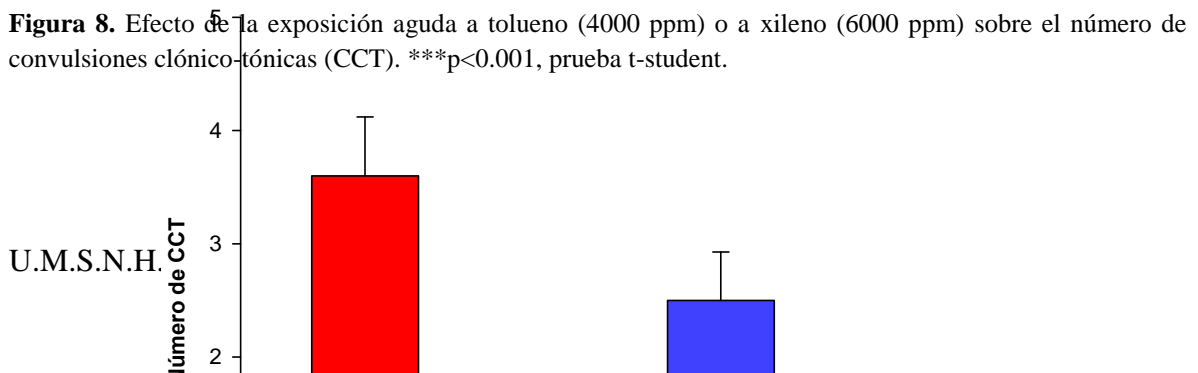


Figura 8. Efecto de la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm) sobre el número de convulsiones clónico-tónicas (CCT). *** $p < 0.001$, prueba t-student.



En la figura 9 se muestra el porcentaje de animales que presentaron CCT. La exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm), disminuyó de manera significativa el porcentaje de animales que presentaron CCT con respecto a su grupo control.

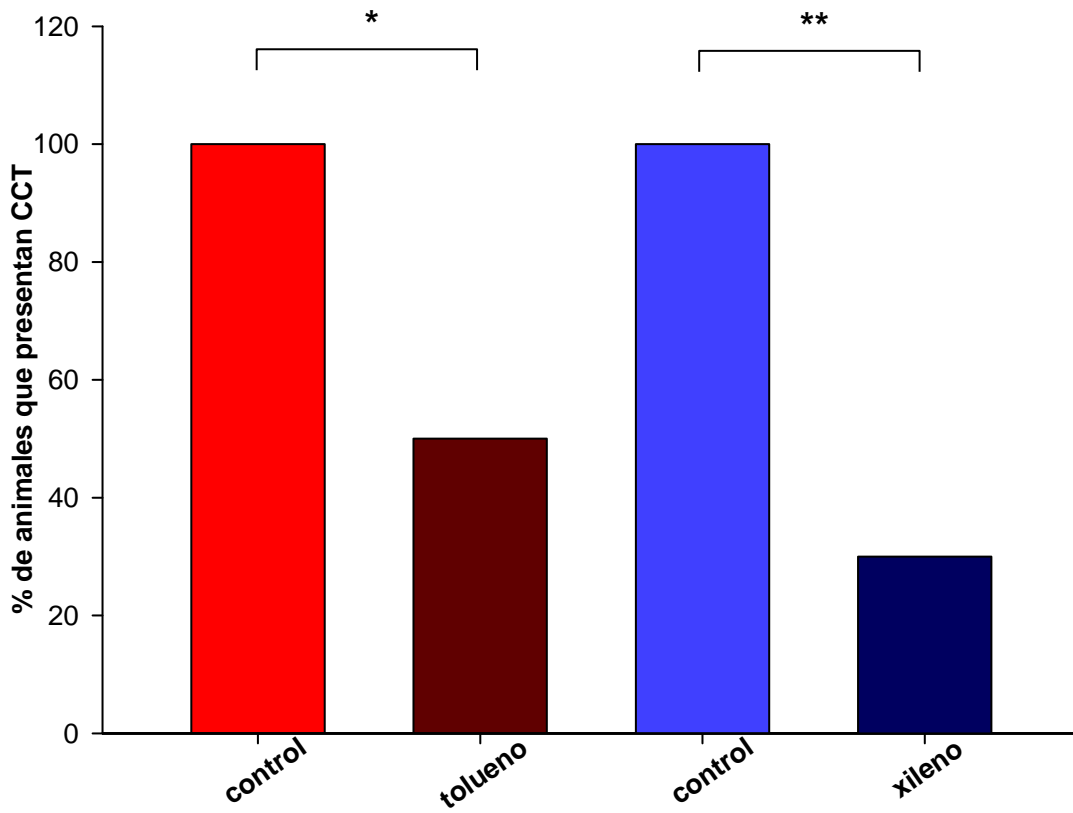


Figura 9. Porcentaje de animales que presentan convulsiones clónico-tónicas (CCT) durante la exposición aguda a tolueno (4000 ppm) o a xileno (6000 ppm). ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, prueba exacta de Fisher.

2. EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN SUBAGUDA A DISOLVENTES

2.1. TOLUENO

En la figura 10 se muestra la latencia para la presentación de CC inducidas por PTZ de las exposiciones aguda y subaguda a tolueno. Se puede observar que, aunque se aprecia una tendencia a aumentar la latencia para la presentación de CC en la exposición subaguda, esta diferencia no es significativa al compararla con su grupo control.

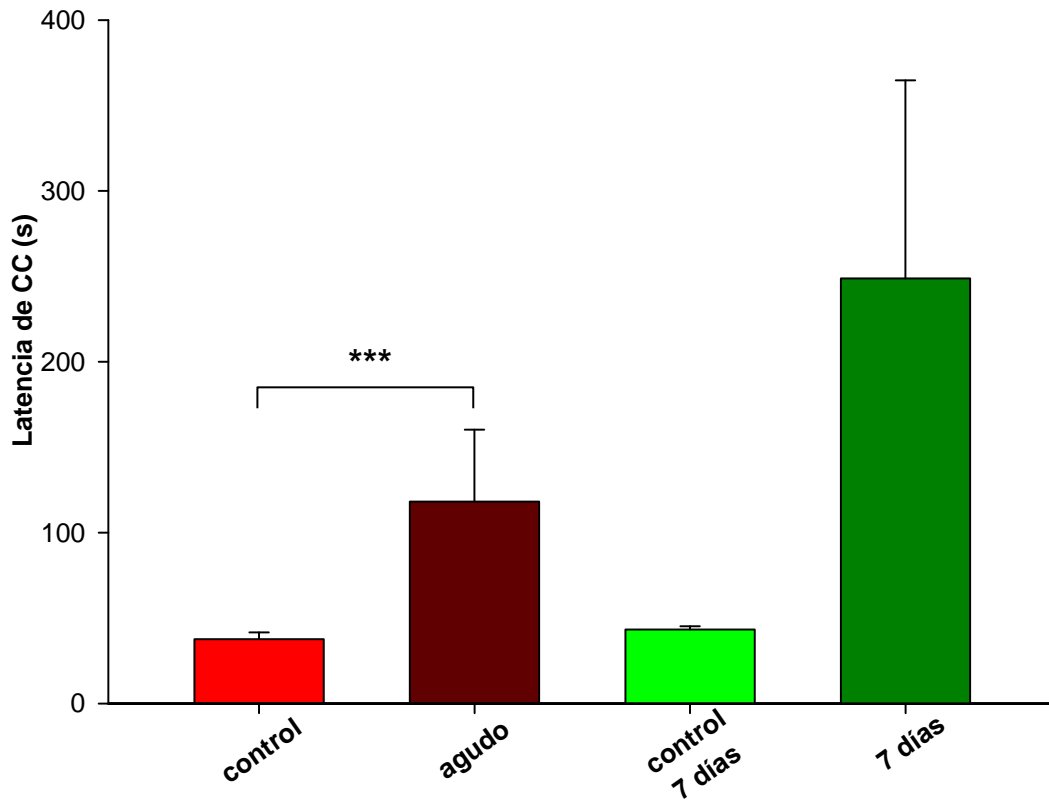


Figura 10. Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm) sobre la latencia de presentación de convulsiones clónicas (CC). *** $p < 0.001$, prueba t-student.

El número de convulsiones clónicas se muestra en la figura 11. Los ratones expuestos a tolueno de manera subaguda mostraron un incremento estadísticamente significativo en el número de CC, al ser comparados con el grupo de la exposición aguda, lo cual indica una pérdida del efecto anticonvulsivante.

En la figura 12 se muestra la latencia de presentación de convulsiones clónico-tónicas. Ambas exposiciones, aguda y subaguda, aumentaron de manera significativa la latencia de presentación de CCT en comparación con su respectivo grupo control.

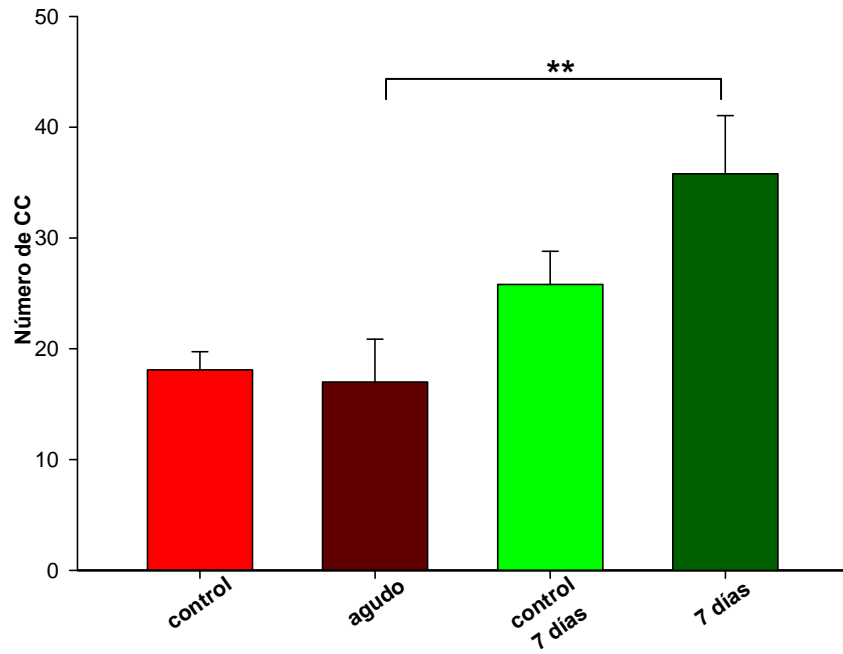


Figura 11. Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm) sobre el número de convulsiones clónicas (CC). ** $p < 0.01$, prueba t-student.

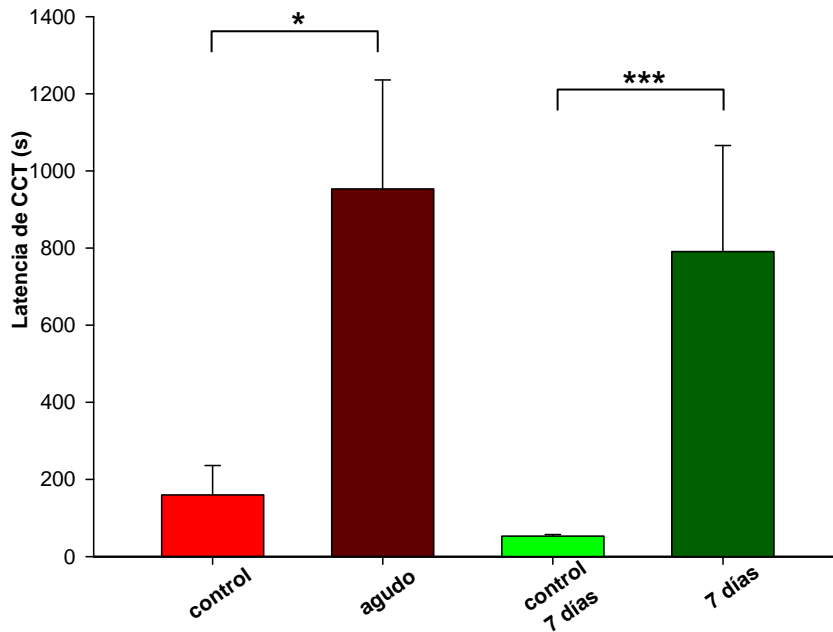


Figura 12. Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm) sobre la latencia de presentación de convulsiones clónico-tónicas (CCT). *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$, prueba t-student.

El número de convulsiones clónico-tónicas se muestra en la figura 13. Tanto la exposición aguda como la exposición subaguda a tolueno produjeron una disminución estadísticamente significativa en el número de CCT al ser comparadas con su respectivo grupo control.

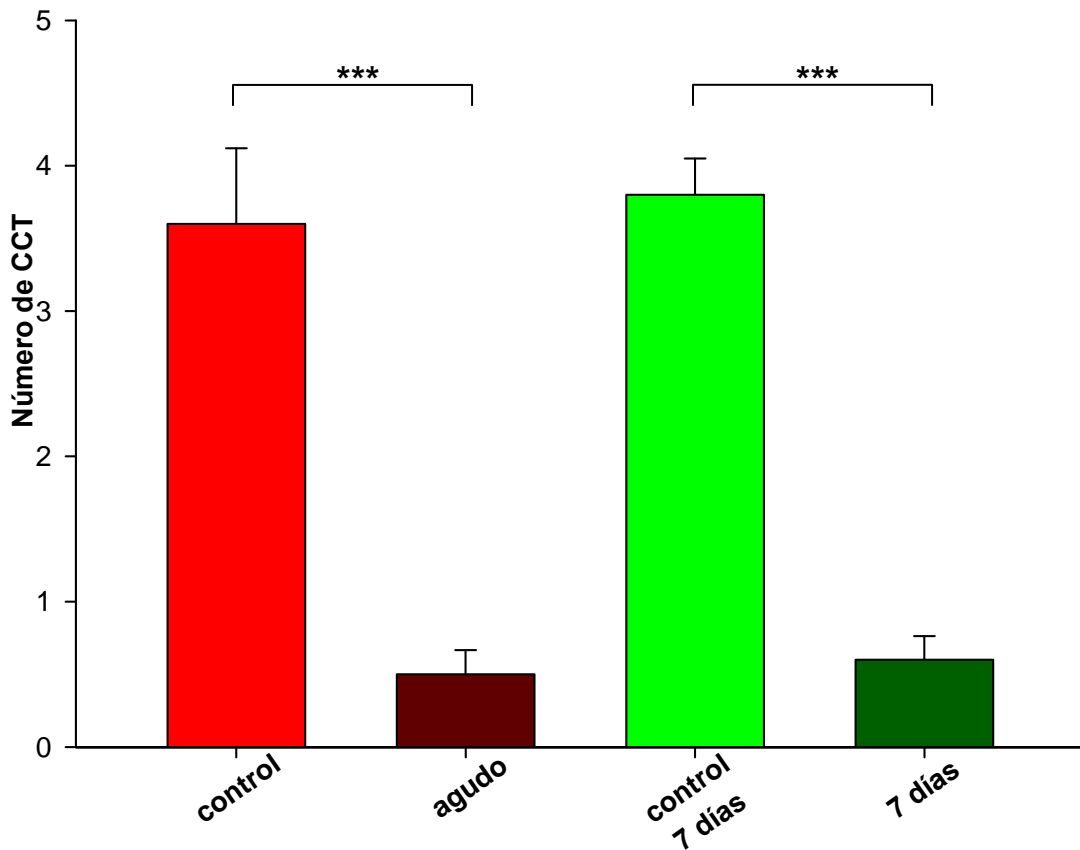


Figura 13. Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm) sobre el número de convulsiones clónico-tónicas (CCT). *** $p < 0.001$, prueba t-student.

La figura 14 muestra el porcentaje de animales que presentaron CCT. En el grupo de ratones expuesto de manera aguda a tolueno, se puede apreciar una disminución significativa en el porcentaje de animales que presentan CCT; sin embargo, al ser administrado este disolvente de manera repetida, esta diferencia deja de ser significativa.

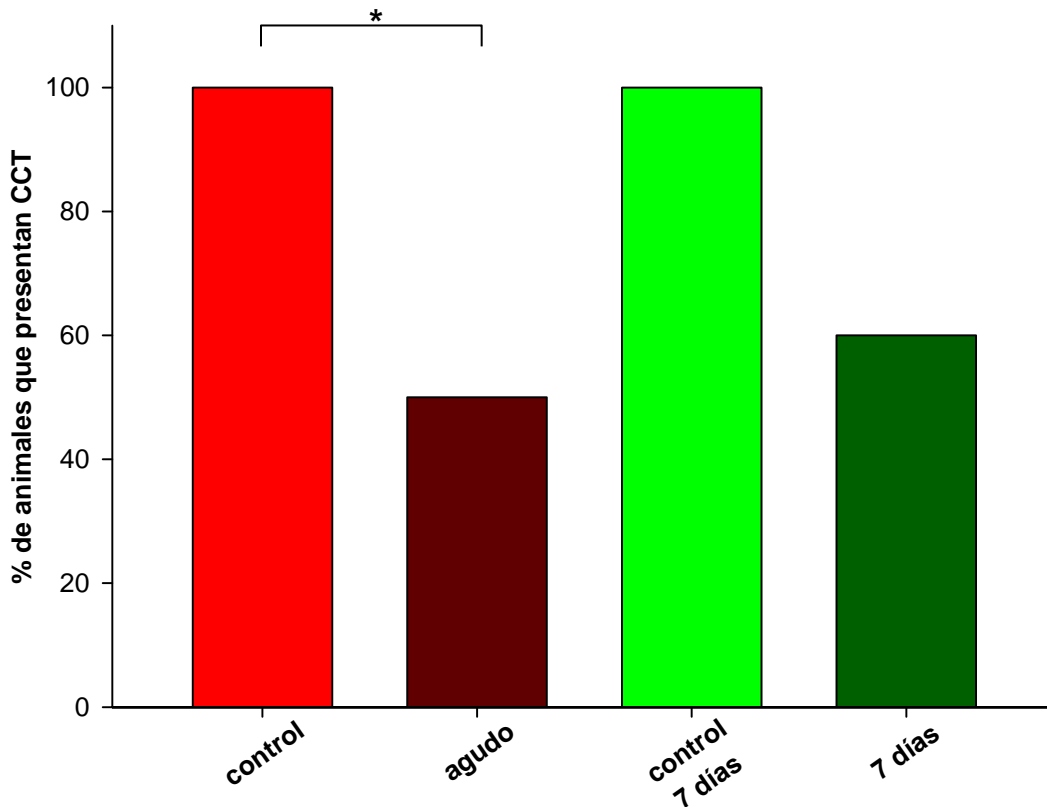


Figura 14. Porcentaje de animales que presentan convulsiones clónico-tónicas (CCT) durante la exposición aguda y subaguda (7 días) a tolueno (4000 ppm). * $p < 0.05$, prueba exacta de Fisher.

2.2. XILENO

La figura 15 muestra la latencia de presentación de convulsiones clónicas (CC) de la exposición aguda y subaguda. Se puede observar que después de administraciones repetidas del disolvente, la diferencia en la latencia de CC sigue siendo significativa con respecto a su control. Sin embargo, al comparar el grupo de ratones expuestos durante 7 días con el grupo expuesto a xileno de manera aguda, se observa una disminución significativa en la latencia de presentación de CC.

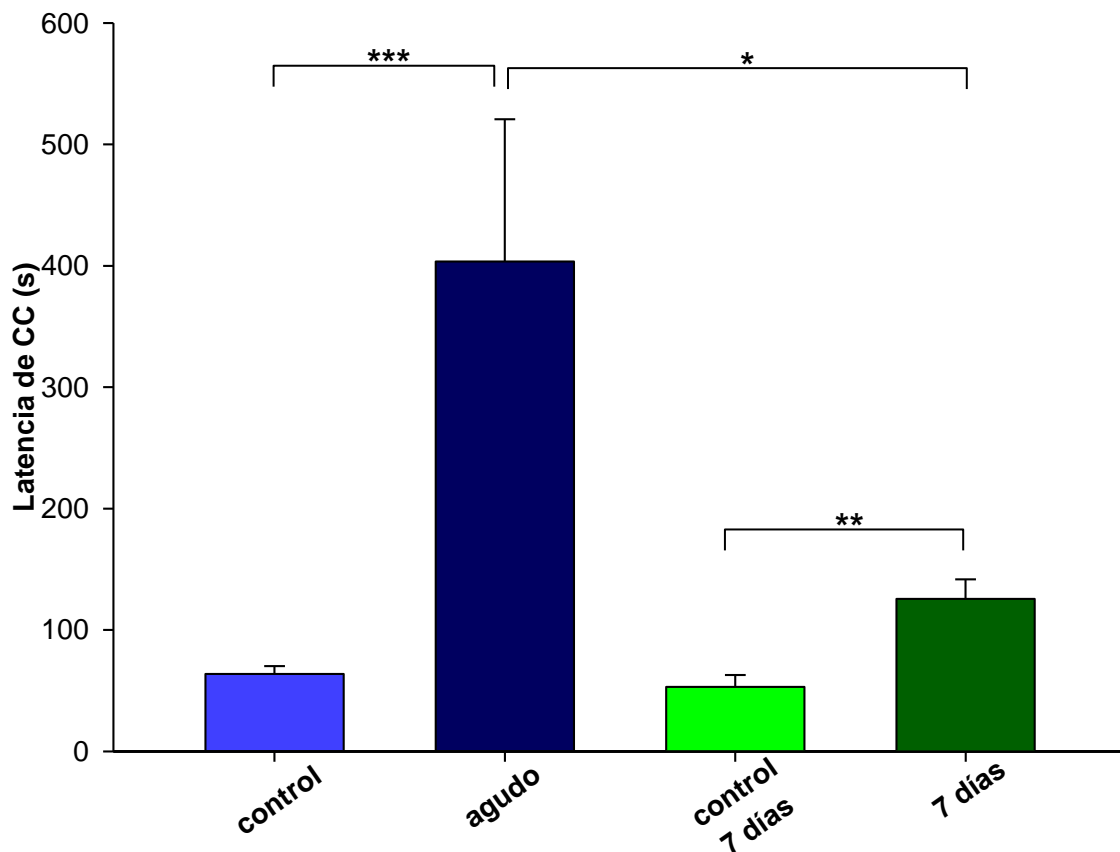


Figura 15. Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm) sobre la latencia de presentación de convulsiones clónicas (CC). *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p \leq 0.5$, prueba t-student.

En la figura16 se graficó el número de convulsiones clónicas (CC) en animales expuestos de manera subaguda a xileno, comparados con los animales expuestos de manera aguda. Aquí se puede observar una pérdida del efecto anticonvulsivante del xileno en los animales expuestos de manera subaguda, ya que el número de episodios fue significativamente mayor al compararlo con el grupo de la exposición aguda y dejó de ser estadísticamente diferente respecto a su control.

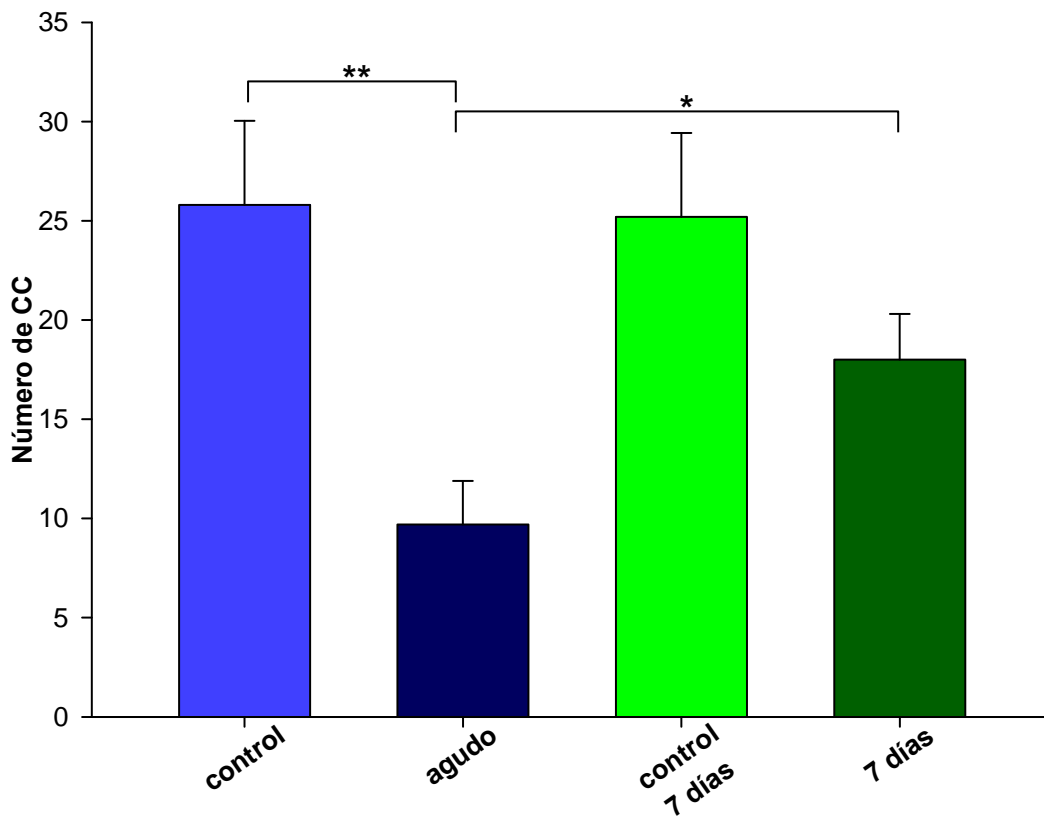


Figura 16. Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm) sobre el número de convulsiones clónicas (CC). ** $p < 0.01$, * $p < 0.5$, prueba t-student.

La figura 17 muestra la latencia para la presentación de convulsiones clónico-tónicas de la exposición aguda y subaguda a xileno. La exposición aguda produjo un efecto anticonvulsivante, ya que aumentó de manera significativa la latencia para la presentación de CCT con respecto a su control y, después de administraciones repetidas a este disolvente, esta diferencia continúa siendo significativa.

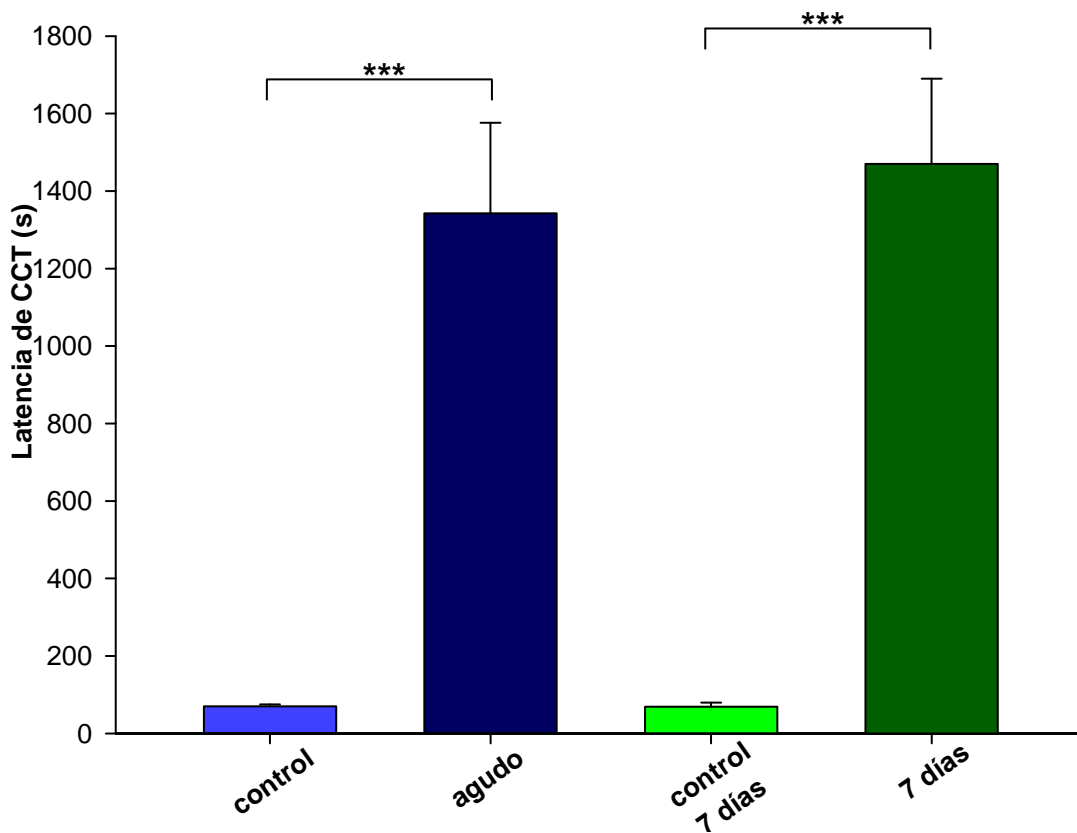


Figura 17. Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm) sobre la latencia de presentación de convulsiones clónico-tónicas (CCT). *** $p < 0.001$, prueba t-student.

El número de CCT en los ratones expuestos de manera aguda o subaguda a xileno fue comparado con su respectivo grupo control, observándose una diferencia significativamente menor en el número de episodios en los grupos de ambas exposiciones (Fig. 18).

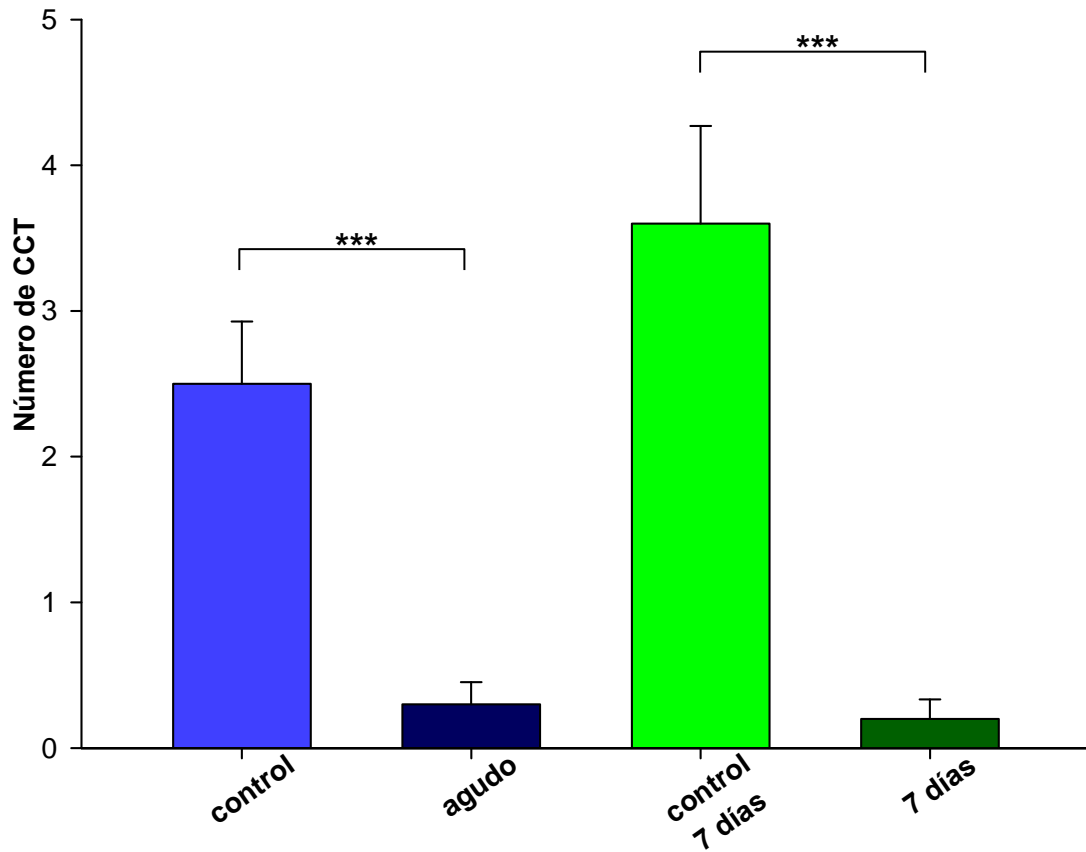


Figura 18. Efecto de la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm) sobre el número de convulsiones clónico-tónicas (CCT). *** $p < 0.001$, prueba t-student.

La figura 19 muestra el porcentaje de animales que presentaron convulsiones clónico-tónicas durante la exposición aguda y subaguda a xileno. La exposición aguda a xileno produjo un efecto protector, ya que disminuyó de manera significativa el porcentaje de animales que presentaron CCT al comparar este grupo con su control. Después de administraciones repetidas a este disolvente, esta diferencia continúa siendo significativa.

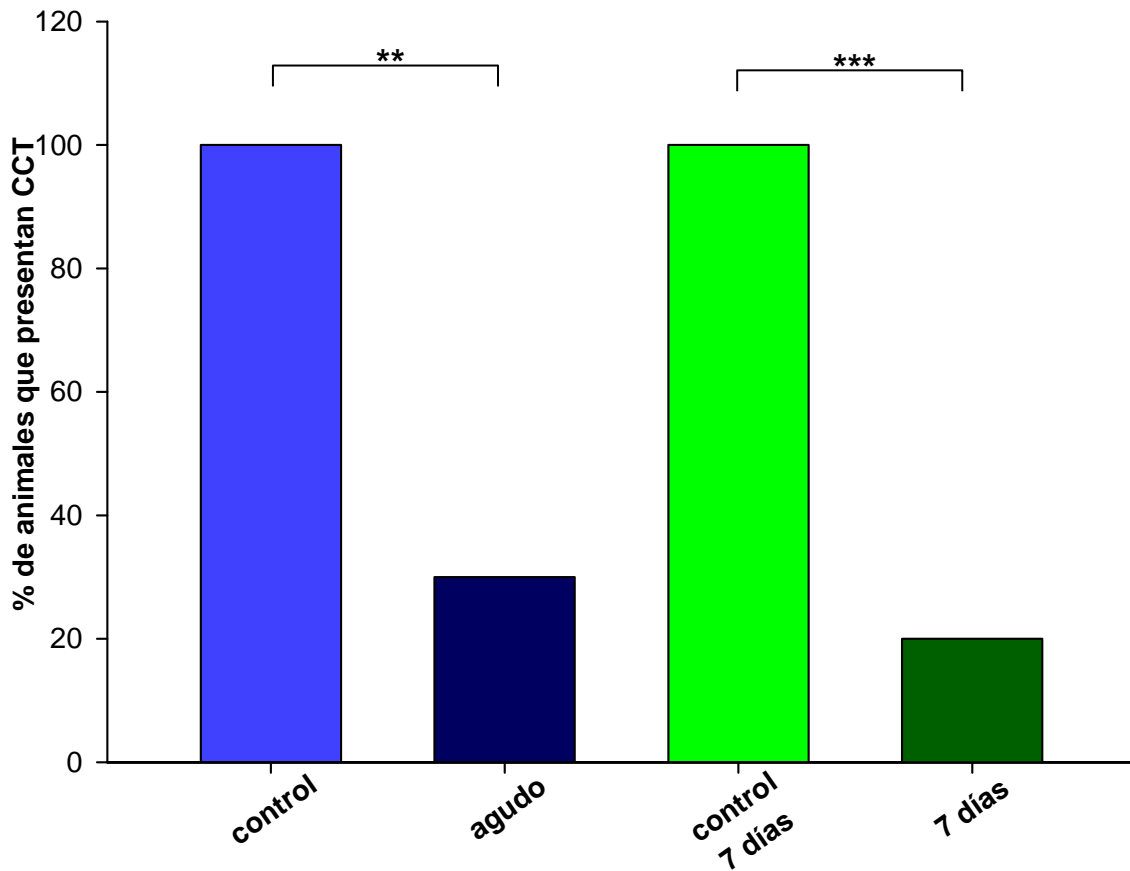


Figura 19. Porcentaje de animales que presentan convulsiones clónico-tónicas (CCT) durante la exposición aguda y subaguda (7 días) a xileno (6000 ppm). *** $p < 0.001$ ** $p < 0.01$, prueba exacta de Fisher.

3. EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN CRÓNICA A XILENO

Como se puede observar en la figura 20, la exposición aguda a xileno (6000 ppm) protege contra las convulsiones inducidas por PTZ, retrasando la aparición de CC. Sin embargo, al comparar el grupo expuesto de manera crónica a xileno con su control, dicha protección se pierde, ya que el aumento en la latencia deja de ser estadísticamente diferente de su grupo control y significativamente menor con respecto al grupo de animales expuestos de manera aguda.

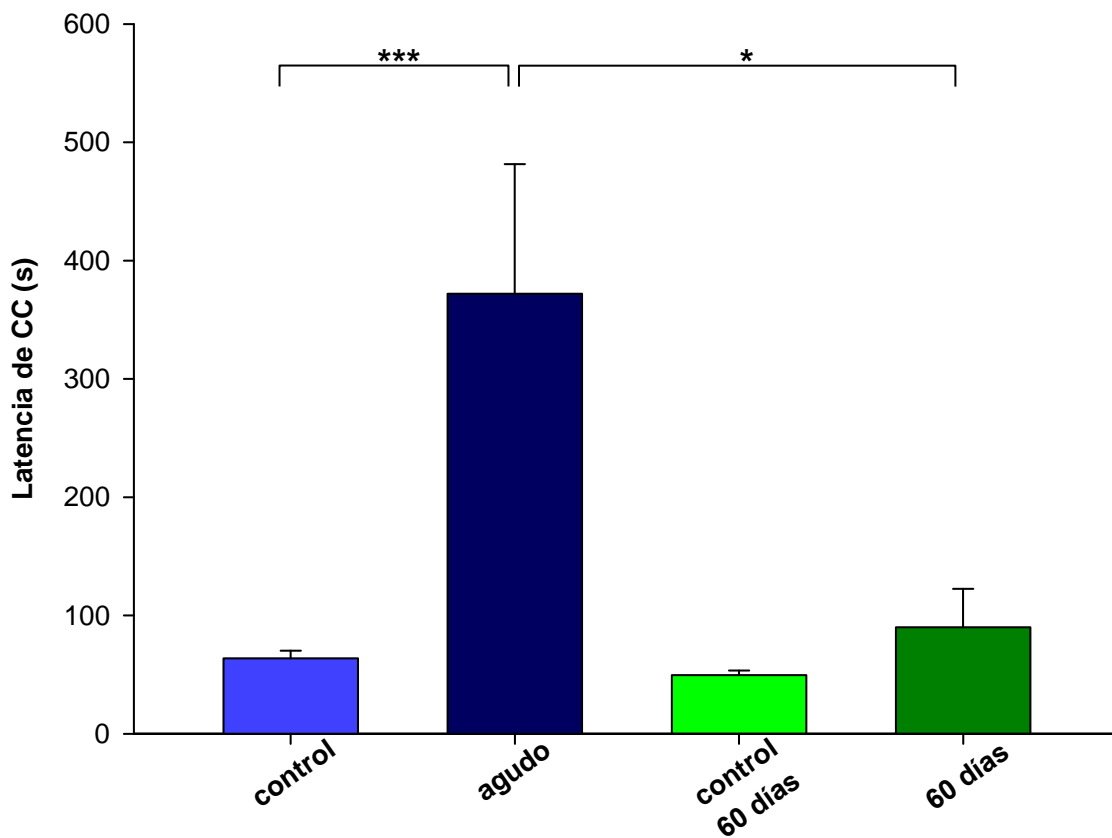


Figura 20. Efecto de la exposición aguda y crónica (60 días) a xileno (6000 ppm) sobre la latencia de presentación de convulsiones clónicas (CC). *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$ prueba t-student.

La figura 21 muestra el efecto de la exposición aguda y crónica a xileno (6000 ppm) sobre el número de convulsiones clónicas. El xileno demostró tener propiedades anticonvulsivantes al disminuir de manera significativa el número de CC al comparar el grupo de la exposición aguda con su control. Sin embargo, después de un tratamiento de 60 días, se presentó una pérdida del efecto protector del xileno, ya que no se observó diferencia significativa entre el grupo expuesto a xileno y su control.

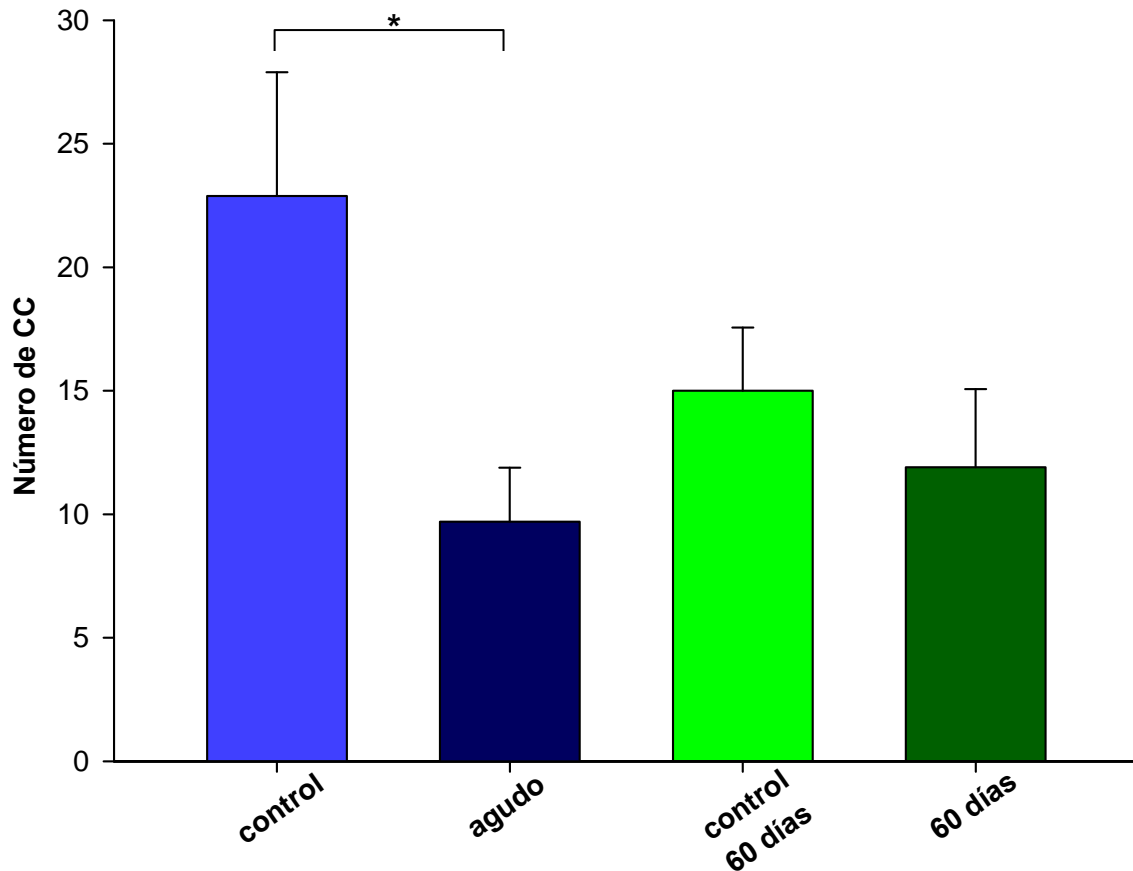


Figura 21. Efecto de la exposición crónica (60 días) a xileno (6000 ppm) sobre el número de convulsiones clónicas (CC). * $p < 0.05$, prueba t-student.

Existen reportes epidemiológicos que indican que la exposición crónica a disolventes puede producir una pérdida de apetito (NIDA, 2004). Basados en esto, registramos el consumo de alimento y agua en animales expuestos de manera crónica a xileno.

La figura 22 muestra los gramos de alimento consumidos por los animales en función del tiempo. Los animales expuestos a xileno consumieron una menor cantidad de alimento en comparación con el grupo control, alcanzando una diferencia significativa a partir de la cuarta semana de tratamiento.

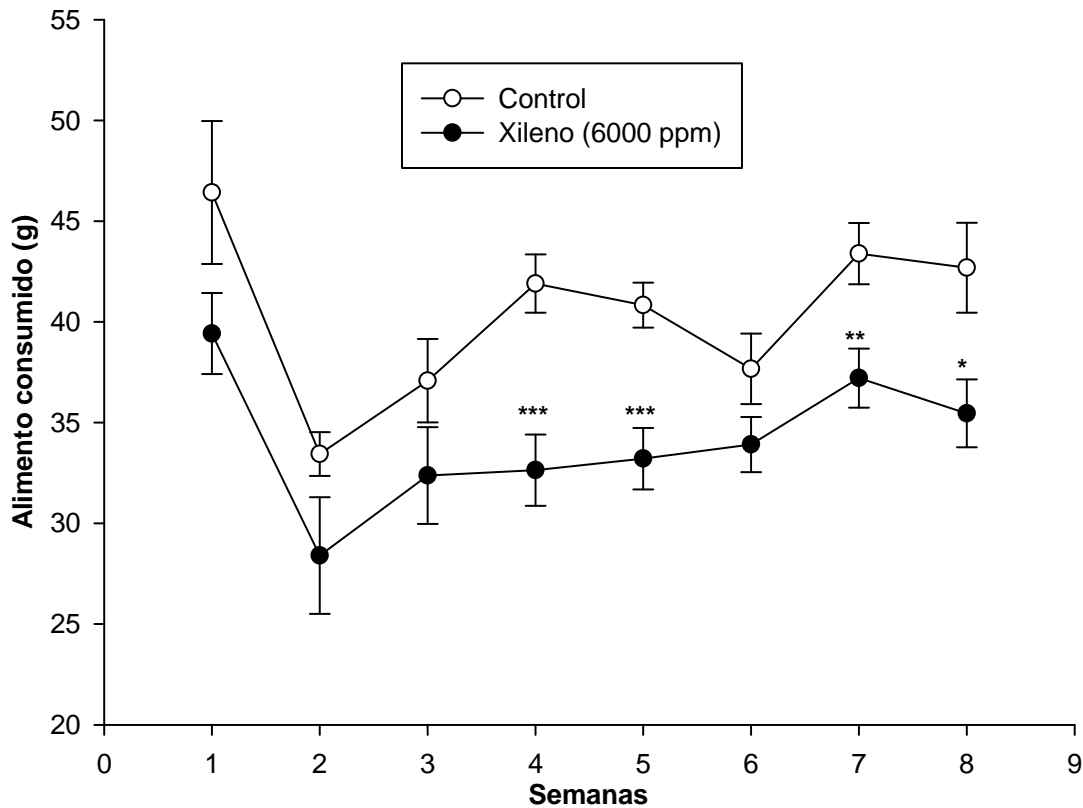


Figura 22. Efecto de la exposición crónica a xileno sobre el consumo de alimento. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, prueba t-student.

También se evaluó el efecto de la exposición crónica a xileno sobre el consumo de agua. En la figura 23 se puede observar que la administración repetida de solvente produce una disminución en la ingesta de agua, siendo significativamente menor en las semanas 4 y 5 con respecto al grupo expuesto a xileno con el grupo control.

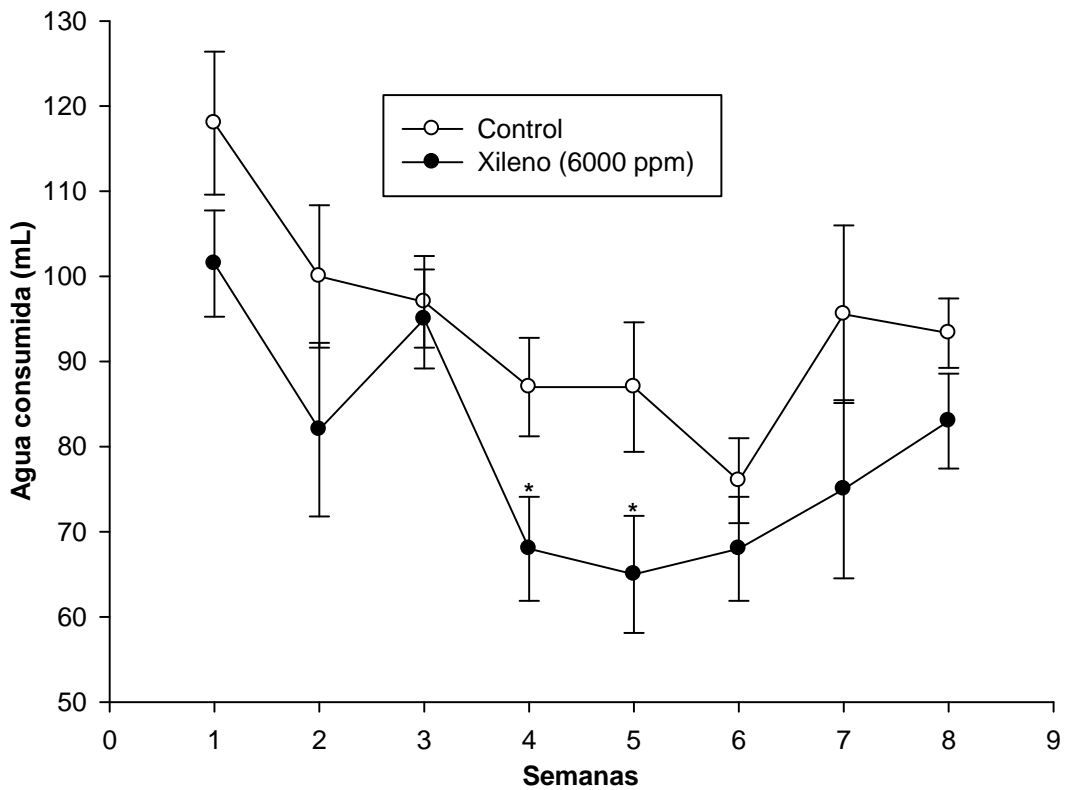


Figura 23. Efecto de la exposición crónica a xileno sobre la ingesta de agua. * $p < 0.05$, prueba t-student.

La figura 24 muestra el efecto de la exposición crónica a xileno sobre el peso corporal de los ratones. Se puede apreciar una tendencia a disminuir de peso en los animales expuestos a xileno; sin embargo, esta diferencia no es significativa al compararla con su grupo control.

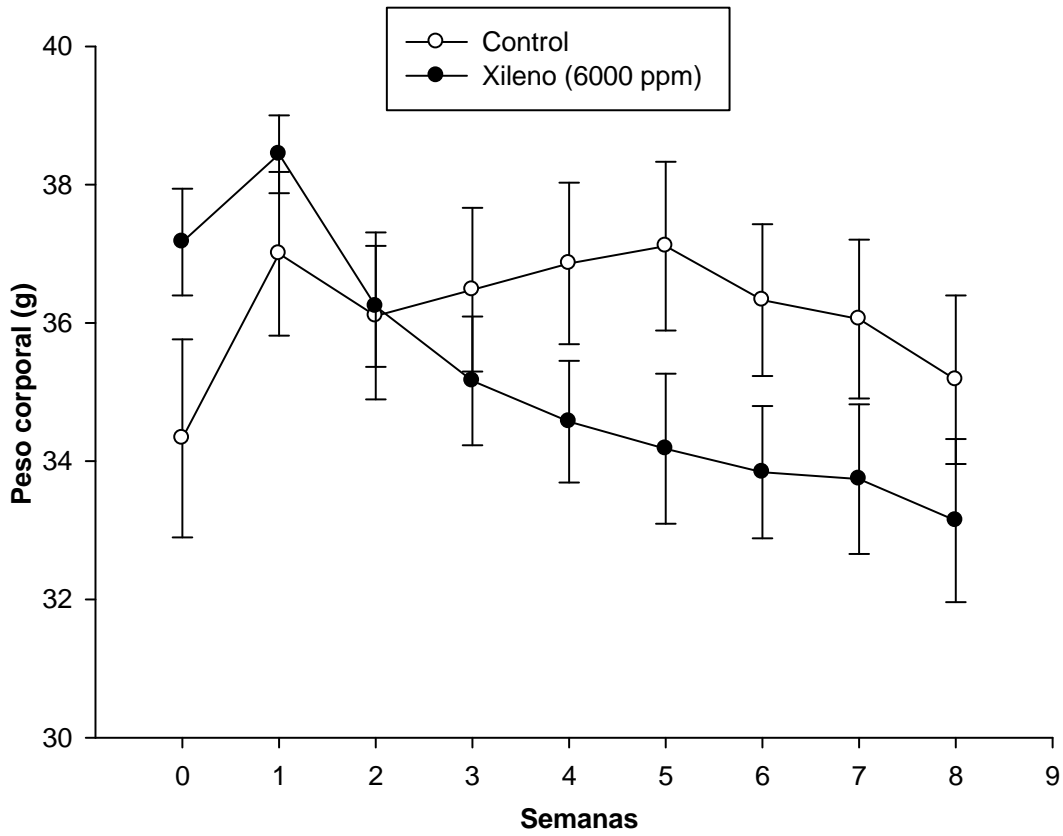


Figura 24. Efecto de la exposición crónica a xileno sobre el peso corporal de los ratones.

VII. DISCUSIÓN

Los inhalables son compuestos volátiles a temperatura ambiente que rara vez son objeto de abuso por otra vía que no sea la inhalación (Dinwiddie, 1992). Dentro de esta categoría, se encuentran los disolventes orgánicos como el tolueno y el xileno, los cuales forman parte de la formulación de varios productos comerciales, como pinturas, “thinner”, pegamentos, gasolina y líquidos limpiadores (Arlien-Søborg, 1992).

Los individuos pueden entrar en contacto con los disolventes de varias formas: en casa, en el trabajo o por la inhalación intencional para alcanzar la intoxicación. La exposición accidental incluye exposiciones ocasionales y breves, tal como cuando un disolvente se utiliza para propósitos domésticos (líquidos limpiadores), o cuando un individuo llena el tanque de su auto con gasolina. Las concentraciones de disolvente en el aire pueden variar de 100 a miles de partes por millón, dependiendo del disolvente (NIOSH, 1995).

Los niveles de exposición durante episodios de abuso son mucho más altos que las concentraciones presentes durante las exposiciones ocupacionales o accidentales. Estos episodios involucran varias inhalaciones de altas concentraciones de disolvente (usualmente varios miles de ppm) durante breves periodos de tiempo (10-15 min) (Brouette y cols., 2001; Marjot, 1989).

Existe evidencia de que estas sustancias tienen efectos parecidos a los depresores clásicos del SNC como los barbitúricos y las benzodiazepinas (Evans y Balster, 1991). Entre estos efectos, se encuentran la capacidad de aumentar la actividad de los receptores GABA_A *in vitro* y de proteger contra las convulsiones inducidas por PTZ (Beckstead y cols.; Wood y cols., 1984). Paradójicamente, los disolventes también tienen efectos proconvulsivantes cuando se administran en altas concentraciones. Por ejemplo, se ha descrito que altas dosis de tolueno (1-2 g/kg), acetato de etilo (0.75-1.5 g/kg) y n-hexano (8-10 g/kg) producen convulsiones en ratones (Silva-Filho y cols., 1992).

En este trabajo de tesis, se utilizó un modelo animal que imita las condiciones presentes durante episodios de abuso a los que están sometidos los usuarios de los disolventes orgánicos, enfocándonos en el estudio de sus efectos sobre las convulsiones inducidas por una dosis de 60 mg/kg de PTZ después de una exposición aguda o subaguda (tolueno y xileno) o crónica (xileno) y sobre la ingesta de alimento y agua.

El PTZ es un agente utilizado con frecuencia en modelos de epilepsia, que produce diversos signos convulsivos, tales como mioclonias, cola de Straub, convulsiones clónicas y clónico-tónicas (Yonekawa y cols., 1980). Los fármacos anticonvulsivantes pueden prevenir o retrasar la aparición de estos signos. Nuestros resultados mostraron que la exposición aguda a ambos disolventes, aumentó de manera significativa la latencia para la presentación de CCT y disminuyó el número de episodios después una inyección de PTZ (60 mg/kg i.p.). En cuanto al número de CC, ambos disolventes aumentaron la latencia de CC significativamente; sin embargo, sólo el xileno fue capaz de disminuir el número de

episodios. Estos resultados concuerdan con aquellos reportados por Wood y cols. (1984), quienes demostraron que la administración i.p. de tolueno (0.2–0.4 g/kg) y m-xileno (0.2–0.5 g/kg) protegen contra las convulsiones inducidas por PTZ (200 mg/kg s.c.) en ratones.

Los efectos protectores de los disolventes en contra de las convulsiones inducidas por varios agentes químicos han sido reportados. Específicamente, la exposición aguda a tolueno (1000–6000 ppm) inhibe la muerte y las convulsiones inducidas por NMDA, en ratones, de una manera dependiente de la concentración (Cruz y cols., 2003). Por otro lado, se ha reportado que una inyección única de tolueno (100–1000 mg/kg) incrementa los umbrales para la presentación de convulsiones y de muerte inducidas por nicotina, NMDA, bicuculina o picrotoxina, pero no contra las inducidas por estricnina (Chan y cols., 2006). Se ha observado que las inyecciones de tricloroetano incrementan significativamente los umbrales y las dosis letales en ratones tratados con PTZ, PTX o NMDA (Shih y cols., 2001). Además, la inhalación de propilbenceno, etilbenceno, tolueno y m-xileno reducen el porcentaje de animales que presentan convulsiones inducidas por PTZ (Gauthereau y Cruz, 2006) (Silva-Filho y cols., 1992). Este efecto protector parece estar ligado a la capacidad de los disolventes para aumentar la actividad de los receptores GABA_A y de inhibir a los receptores NMDA (Bowen y cols., 2006)

Aunque estos estudios son similares, es importante mencionar que las diferencias en cuanto a la cepa, el sexo, la edad y, el manejo de los animales y las condiciones ambientales (luz, temperatura, dieta, humedad, etc.) pueden modificar los resultados. El tipo y severidad de las convulsiones generalizadas en los modelos animales se relaciona con la intensidad del estímulo, la dosis y la vía de administración del PTZ (Koella, 1985; Swinyard, 1969; Swinyard y cols., 1952, Woodbury y Davenport, 1952). Además, existe evidencia de que los umbrales para la presentación de convulsiones provocadas por PTZ varían a lo largo del año, siendo más altos en los meses de invierno y más bajos en verano, a pesar de las condiciones ambientales controladas (Löscher y Fiedler, 1996). Sin embargo, se sabe que las alteraciones en la temperatura corporal tienen una marcada influencia sobre la susceptibilidad frente a las convulsiones, así que cualquier disminución en la temperatura del ambiente puede incrementar la susceptibilidad frente a las convulsiones experimentales (Woodbury, 1969).

En cuanto a los efectos crónicos de la exposición a los disolventes, existen estudios clínicos y experimentales que han demostrado que se produce un daño extenso sobre el sistema nervioso central después de largos periodos de exposición a disolventes volátiles. El daño incluye anormalidades histológicas con neuropatía periférica debida a la degeneración y desmielinización axonal, atrofia cerebelar y lesiones en los ganglios basales (Ashikaga y cols., 1995; Lolín, 1989; Yamanouchi y cols., 1995), perturbaciones neuroquímicas, como la disminución en las concentraciones de dopamina; cambios cognitivos y conductuales que incluyen fatiga, mareo, dolor de cabeza y daño en la concentración y memoria, así como demencia (Mutti y cols., 1988; Kraut y cols., 1988).

En este trabajo, observamos que el umbral de la latencia para la presentación de convulsiones clónicas de los ratones expuestos durante 7 días a xileno (6000 ppm) fue

menor al compararlo con el grupo de la exposición aguda. En cuanto al número de convulsiones clónicas, la capacidad de ambos disolventes para disminuir el número de éstas se vio disminuida después de administraciones repetidas, lo cual se reflejó en un aumento en el número de CC en comparación con el grupo de la exposición aguda. Por otro lado, al evaluar el porcentaje de animales que presentaban convulsiones clónico tónicas, observamos que éste fue mayor en el grupo expuesto a tolueno durante 7 días, en comparación con el grupo de la exposición aguda.

De manera similar, se observó un incremento en el número de convulsiones clónicas y una disminución significativa en la latencia en el grupo de ratones tratados con xileno (6000 ppm) durante 60 días. Los hallazgos anteriores se pueden interpretar como una pérdida del efecto protector o como un efecto proconvulsivante. Los datos obtenidos en este trabajo fueron similares a los obtenidos por Palencia y cols. (1998), quienes expusieron ratas Wistar de manera crónica a 20 ppm de una mezcla comercial de “thinner” (9% metanol, 13% butanol, 8% hexano, 8% benceno, 49% tolueno y cerca de 1% los siguientes compuestos: xileno, tetradecano y pentadecano), 30 min diarios durante 4 meses y observaron que se requería una dosis menor de PTZ para producir mioclonias y convulsiones generalizadas en los animales expuestos a la mezcla de disolventes con respecto a su grupo control, asimismo, se produjo una disminución en el umbral de la latencia de presentación de estos signos. Esta actividad proconvulsivante de los disolventes, también se ha observado al manipular ratones después de una exposición continua a TCE (500-2000 ppm) (Balster y col., 1992; Evans y Balster, 1993) o 250 ppm de tolueno durante 4 días (Wiley y cols., 2003). Por su parte, se observaron efectos similares en ratones, una vez que fueron retirados de la cámara de exposición después de completar un periodo de exposición de 20 min a 2000 ppm de acetato de etilo y de acetato de n-butilo (Bowen y Balster, 1997). La reactividad ante el manejo de los animales puede ser considerada como un signo de síndrome de abstinencia en animales expuestos de manera crónica a disolventes; sin embargo, es difícil pensar que la dependencia pueda desarrollarse después de 20 min de exposición a disolventes (Bowen, 2006). La aparición de esta actividad proconvulsivante resultante de largos periodos de exposición parece estar relacionada con cambios adaptativos en los receptores NMDA y GABA_A. Por ejemplo, un tratamiento prolongado con tolueno (1mM/4 días) en neuronas de hipocampo reduce la respuesta celular producida por GABA, por lo tanto, sería de esperarse que la disminución de la actividad GABAérgica resulte en un aumento de la excitabilidad durante la abstinencia a la exposición crónica a tolueno (Bale y cols., 2005).

Por otro lado, se han encontrado cambios significativos en los niveles de la subunidad $\alpha 1$ de los receptores GABA_A (un incremento en la corteza prefrontal media y una disminución en la sustancia negra) en ratas expuestas a 8000 ppm de tolueno por 10 días (Williams y cols., 2005). De manera similar, Baly y cols. (2005) demostraron que la exposición a 1 mM de tolueno durante 4 días incrementa los niveles de las subunidades NR1, NR2A y NR2B de los receptores NMDA en cultivos de neuronas de hipocampo.

Sin embargo, se ha reportado que los animales podrían sufrir stress durante los experimentos crónicos debido a la constante manipulación, lo cual podría disminuir la actividad anticonvulsivante de los disolventes. En 1997, Deutsch y cols. probaron la capacidad de varios antagonistas no competitivos del receptor NMDA (MK-801, fenciclidina, ketamina y memantina) para disminuir las convulsiones inducidas por electroshock en ratones, después de estresarlos, obligándolos a nadar en agua fría (6 °C) durante 10 minutos y encontraron que los umbrales de convulsiones del MK-801 y la memantina disminuyeron de manera significativa. Sin embargo, los umbrales de la fenciclidina y ketamina no sufrieron cambio alguno, lo que sugiere que los cambios inducidos por stress alteran el tamaño y las características de carga del canal.

El último objetivo de este trabajo fue determinar los efectos de la exposición crónica a xileno sobre la ingesta de alimento y de agua, basándonos en el hecho de que existen reportes epidemiológicos que indican que la exposición crónica a los disolventes pueden producir pérdida de apetito (NIDA, 2004). Sin embargo, aún se desconocen los mecanismos involucrados en este proceso.

En los mamíferos, la percepción y detección del sabor se realiza a través de una vía neuronal que se extiende desde la lengua y el paladar hasta la corteza parietal inferior (Guyton, 1996; Buck, 2000). Un sabor detectado a través del sistema gustativo en los humanos se conoce como umami, una palabra de origen japonés que se cree que es el resultado de la detección del anión carboxilato, asociado con el aminoácido glutamato. Dingedine y Conn (2000) han propuesto que los receptores NMDA pueden jugar un papel importante en la transducción y percepción del sabor umami. En 2009, Gauthereau y cols. expusieron ratas Wistar a 6000 ppm de tolueno, xileno o benceno (30 min/2 veces al día) durante 8 semanas, para determinar si la exposición crónica a estos disolventes producía alteraciones en el consumo de una solución de glutamato, en el peso corporal y en la ingesta de alimento y observaron que las ratas expuestas a los disolventes tuvieron un menor aumento de peso y consumieron una menor cantidad de alimento en comparación con los animales expuestos a aire. Sin embargo, estos cambios fueron más notorios en las ratas tratadas con benceno. En cuanto al consumo de la solución de glutamato, las ratas tratadas con los disolventes consumieron una mayor cantidad de ésta, en comparación con el grupo control. Nuestros resultados fueron similares a los de este estudio, ya que los animales tratados con xileno mostraron una disminución en la ingesta de alimento y agua en comparación con el grupo control.

Este tipo de alteraciones en la ingesta de alimento se han reportadas por varios autores. En 1984, Miyagawa y cols., encontraron que la administración intraperitoneal (200-800 mg/kg) e intravenosa (20-40 mg/kg) de tolueno, así como la inhalación de 1650-3300 ppm de tolueno durante 4 horas induce un aprendizaje condicionado de aversión al sabor de una manera dependiente de la dosis en ratas, lo sugiere que el tolueno actúa como un estímulo conductual aversivo. Hallazgos similares fueron encontrados por Bushnell y Peele (1988), quienes observaron que la inhalación de p-xileno (200-1600 ppm/4 h) redujo el consumo de sacarina. Más recientemente, se reportó que la administración de tolueno

(1.3 ml/kg i.p./4 días) tiene como resultado una reducción del consumo de alimento y en la ganancia de peso corporal (Morón y cols., 2004).

VIII. CONCLUSIONES

- ✓ La exposición aguda a xileno y a tolueno protege contra las convulsiones inducidas por PTZ.
- ✓ La exposición repetida a disolventes reduce su capacidad para proteger de las convulsiones inducidas por PTZ.
- ✓ La exposición crónica a xileno modifica el consumo de alimento y agua.

IX. REFERENCIAS

Abott A: Neurobiological perspectives on drugs of abuse. Trends Pharmacol Sci, 13:169, 1992.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Department of Health and Human Services. Public Health Service. September 2000. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.pdf>

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Department of Health and Human Services, Public Health Service, August 2007. Disponible en: www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp71.pdf

Arito H, Tsurita H, Nakagaki K, Tanaka S: Partial insomnia, hyperactivity and hyperdipsia induced by repeated administration of toluene in rats: their relation to brain monoamine metabolism. Toxicology, 37:99-110, 1985.

ARLIEN-SOBORG, P. (1992). Solvent Neurotoxicity. Boca Raton, FL: CRC Press.

Arnold G.L, Kirby R.S, Langendoerfer s., Wilkins-Haug L., Toluene embryopathy: clinical delineation and developmental follow-up, Pediatrics 93 (1994) 216–220.

Ashikaga R, Araki Y, Ishida KO. Cranial MRI in chronic thinner intoxication to volatile substances. Neuroradiology 1995, 37:443-4.

Ayres PH, Taylor DW: Solvents. En: Principles and methods of Toxicology. Segunda Edición. Hayes W (ed). Raven Pres, Ltd., Nueva York, 1989.

Bale A.S., Tu Y., Carpenter-Hyland E.P., Chandler L.J., Woodward J.J., Alterations in glutamatergic and gabaergic ion channel activity in hippocampal neurons following exposure to the abused solvent toluene, Neuroscience 130 (2005) 197–206.

Bale A.S., Smothers C.T., Woodward J.J., Inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by the abused solvent, toluene, Br. J. Pharmacol. 137 (2002) 375–383.

Balster R.L. Neural Basis of inhalant abuse. Drug and Alcohol Dependence 51:207-214, 1998.

Baydas G., Ozveren F., Akdemir I., Tuzcu M., Yasar A., Learning and memory deficits in rats induced by chronic thinner exposure are reversed by melatonin, J. Pineal Res. 39 (2005) 50–56.

Barroso-Moguel R, Villeda-Hernandez J, Mendez-Armenta M: Teratologic cranio-encephalic effects of chronic thinner inhalation in progenitors, in rats and humans. *Gac Med Mex*, 127:493-500, 1991.

Beckstead M.J., Weiner J.L., Eger II E.I., Gong D.H., Mihic S.J., Glycine and gamma-aminobutyric acid(A) receptor function is enhanced by inhaled drugs of abuse, *Mol. Pharmacol.* 57 (2000) 1199–1205.

Bespalov A, Sukhotina I, Medvedev I, Malyshkin A, Belozertseva I, Balster RL, Zvartau E: Facilitation of electrical brain self-stimulation behavior by abused solvents. *Pharmacol Biochem Behav*, 75:199-208, 2003.

Bloom, F.E. Neurotransmission and the central nervous system. In, Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th ed. (Hardman, J.G. and Limbird, L.E., eds.) McGraw-Hill, New York, 1996, pp. 267-293.

Bloomquist JR (1996) Ion channels as targets for insecticides. *Annu Rev Entomol* 41:163-190.

Bonert TP, McKernan RM, Farrar S, le Bourdelles B, Heavens RP, Smith DW, Hewson L, Rigby MR, Sirinathsingji DJS, Brown N, et al. (1999) θ , a novel γ -aminobutyric acid type A receptor subunit. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:9891-9896.

Bockelmann I, Pfister E.A., Peters B., Duchstein S., Psychological effects of occupational exposure to organic solvent mixtures on printers, *Disabil. Rehabil.* 26 (2004) 798–807.

Bowen S.E., Balster R.L., Effects of inhaled 1,1,1-trichloroethane on locomotor activity in mice, *Neurotoxicol. Teratol.* 18 (1996) 77–81.

Bowen S.E., Balster R.L., A direct comparison of inhalant effects on locomotor activity and schedule-controlled behavior in mice, *Exp. Clin. Psychopharmacol.* 6 (1998) 235–247.

Bowen S.E., Balster R.L., Tolerance and sensitization to inhaled 1,1,1- trichloroethane in mice: results from open-field behavior and a functional observational battery, *Psychopharmacology* 185 (2006) 405–415.

Bowen SE, Batis JC, Paez-Martinez N, Cruz SL: The last decade of solvent research in animal models of abuse: Mechanistic and behavioral studies. *Neurotoxicology and Teratology* 28 (2006) 636-647.

Bowen SE, Wiley JL, Balster RL: The effects of abused inhalants on mouse behavior in an elevated plus-maze. *Eur J Pharmacol*, 312:131-136, 1996.

Bowen, S.E., Wiley, J.L., Jones, H.E., Balster, R.L., 1999. Phencyclidine- and diazepam-like discriminative stimulus effects of inhalants in mice. *Exp. Clin. Psychopharmacol.* 7, 28-37.

Brouette T., Anton R., clinical review of inhalants, *Am. J. Addict.* 10 (2001) 79-94.

Brust, J. C. (1993). *Neurological aspects of substance abuse*. Boston: Butterworth-Heinemann.

Buck, L.B. (2000). Smell and taste: The chemical senses. In Kandel E.R, Schwartz, J.H. and Jessell, T.M., editors. *Principles of Neuronal Science*. McGraw-Hill, New York.

Bukowski J.A., Review of epidemiological evidence relating toluene to reproductive outcomes, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 33 (2001) 147–156.

Bushnell, P.J., Peele, D.B. (1988). *Neurotoxicol. Teratol.* 10(3), 273-277.

Carlini-Marlatt B., Gazal-Carvalho C., Gouveia N., Souza Mde F., Drinking practices and other health-related behaviors among adolescents of Sao Paulo City, Brazil, *Subst. Use Misuse* 62 (2003) 155–158.

Chan M.H., Lee C.C., Chen H.H., Effects of toluene on seizures induced by convulsants acting at distinct ligand-gated ion channels, *Toxicol. Lett.* 160 (2006) 179–184.

Chouaniere D., Wild P., Fontana J.M., Hery M., Fournier M., Baudin V., Subra I., rouselle D., Toamain J.P., Saurin S., Adriot M.R., Neurobehavioral disturbances arising from occupational toluene exposure, *Am. J. Ind. Med.* 41 (2002) 77–88.

Cooper, J., Bloom, F., and Roth, R. *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. Oxford University Press, New York, 2003.

CRC. 1994. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 75th edition. Lide DR, ed. Boca Raton, FL: CRC Press Inc.

Cruz S.L., Balster R.L. & Woodward J.J. Effects of volatile solvents on recombinant N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *British Journal of Pharmacology* (2000) 131, 1303 – 1308.

Cruz S.L., Gauthereau M.Y., Camacho-Munoz C., Lopez-Rubalcava C., Balster R.L., Effects of inhaled toluene and 1,1,1-trichloroethane on seizures and death produced by N-methyl-D-aspartic acid in mice, *Behav. Brain Res.* 140 (2003) 195–202.

Cruz SL, Mirshahi T, Thomas B, Balster RL, Woodward JJ: Effects of the abused solvents toluene on recombinant N-methyl-D-aspartate and non-N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J Pharmacol Exp Ther*, 286: 334-40, 1998.

Cruz, S.L., Orta-Salazar, G., Gauthereau, M.Y., Millan-Perez Peña, L., Salinas- Stefanon, E.M., 2003. Inhibition of cardiac sodium currents by toluene exposure. *Br. J. Pharmacol.* 140, 653–660.

Cruz SL, Paez-Martinez N, Pellicer F, Salazar LA, Lopez-Rubalcaba C: Toluene increases acute thermonociception in mice. *Behav Brain Res*, 120:213-20, 2001.

Daval, J.-L., A. Nehlig and F. Nicolas, 1991. Physiological and pharmacological properties of adenosine: therapeutic implications, *Life Sci.* 49, 1435.

Dell C.A., Gust S.W., MacLean S., *Global Issues in Volatile Substance Misuse. Substance Use & Misuse*, 46:1-7, 2011.

Deutsch S.I., Mastropaolo J., Riggs R.L. and Rosse R.B. The antiseizure efficacies of MK801, phencyclidine, ketamine, and memantine are altered selectively by stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, Vol. 58, No. 3, pp. 709-712, 1997.

Dinwiddie, S.H. Abuse of inhalants: a review, *Addiction* 89 (1994) 925-939.

Dohrn, C., Lichtor, J.L., Finn, R.S., Uitvlugt, A., Coalson, D.W., Rupani, G., de Wit, H., Zacny, J.P., 1992. Subjective and psychomotor effects of nitrous oxide in healthy volunteers. *Behav. Pharmacol.* [3, 19] 30.

Donald JM, Hooper K, Hopenhayn-Rich C: Reproductive and developmental toxicity of toluene: a review. *Environ Health Perspect*, 94:237-44, 1991.

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.

DSM-IV (Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales). Versión española de la cuarta edición de la obra original en la lengua inglesa *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV*, publicada por la American Psychiatric Association Washington, Masson 1995. Disponible en <http://148.228.156.172/DSMIV/DSMIV/PORTADA.PDF>.

Encuesta Nacional de Adicciones 2008. Disponible en: http://www.conadic.salud.gob.mx/pdfs/ena08/ENA08_NACIONAL.pdf.

Enna S.J. The GABA receptors. En: *The GABA receptors* 3th ed. 999 Riverview Drive, Suite 208, Totowa, New Jersey Humana Press Inc., 2007. Pág. 4.

EPA. 1990a. Drinking water criteria document for toluene. Cincinnati, OH: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Health and Environmental Assessment, Research and Development, ECAO-CIN-408.

Evans EB and Balster RL (1991) CNS depressant effects of volatile organic solvents. *Neurosci Behav Rev* 15:233-241.

Evans EB, Balster RL: Inhaled 1,1,1-trichloroethane-produced physical dependence in mice: effects of drugs and vapors in withdrawal. *J Pharmacol Exp Ther*, 264:726-33, 1993.

Filley C.M., Halliday W., Kleinschmidt-DeMasters B.K., The effects of toluene on the central nervous system, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 63 (2004) 1–12.

Flanagan, R.J., & Ives, R.J. (1994). Volatile substance abuse. *Bulletin on Narcotics*, 46, 49-78.

Flanagan RJ, Ruprah M, Meredith TJ, Ramsey JD. An introduction to the clinical toxicology of volatile substances. *Drug Safety* 1990; 5: 359-383.

Gauthereau M.Y. and Cruz S.L., Effects of several abused solvents on seizures induced by pentylentetrazole (PTZ) or N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) in mice. CPDD 68th Annual Scientific Meeting. June 17-22, 2006.

Gauthereau-Torres M.Y., Martínez-Revollar G., Miranda-Plancarte M., Girón-Abarca L., Campos-Campos B., Camargo-Mercado R. Effects of Chronic Solvent Abuse Exposure on Umami Taste Perception. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 52:99-104 (2009).

Gauthereau M.Y., Salinas-Stefanon E.M., Cruz S.L.: A mutation in the local anaesthetic binding site abolishes toluene effects in sodium channels. *European Journal of Pharmacology* 528 (2005) 17–26.

Goudi AJ, Emmett-Oglesby MW. *Psicoactive Drugs: Tolerance and Sensitization*. Human Press, Nueva Jersey, 1989.

Goodheart, R. S., & Dunne, J. W. (1994). Petrol sniffer's encephalopathy: A study of 25 patients. *Medical Journal of Australia*, 160, 178-181.

Gutiérrez, R., & Vega, L. (1995). Las interpretaciones, las prácticas y las reacciones sociales del uso de solventes inhalables entre los llamados niños de la calle [The social interpretations, practices and reactions to solvent use by the so-called street children]. *Anales del Instituto Mexicano de Psiquiatría*, 6, 140-145.

Guyton, A.C. (1996). *Précis de Physiologie Médicale*. Piccin Nuova Libreria. Padoue, Italie.

Haverkos, H.W., Kopstein, A.N., Wilson, H., Drotman, P., 1994. Nitrite inhalants: History, epidemiology, and possible links to AIDS. *Environ. Health Perspect.* 102, 858-861.

Hendry, B. M., Elliott, J.R., Haydon, D.A. 1985. *Proc Royal Soc Lon.* 224, 389.

Hevers W and Luddens H (1998) The diversity of GABA_A receptors: pharmacological and electrophysiological properties of GABA_A channel subtypes. *Mol Neurobiol* 18:35-86.

Himnan DJ: Tolerance and reverse tolerance to toluene inhalation: effects on open-field behavior. *Pharmacol Biochem Beavav*, 21:625-31, 1984.

HSDB. 2007. Xilene. Hazardous Substances Data Bank. National Library of Medicine. <http://toxnet.nlm.nih.gov>. May 4, 2007.

HSDB. 1995. Hazardous Substances Data Bank. On-line data base. Xylenes. Micromedex, Inc. Vol. 25.

IARC. 1988. Toluene: uses, occurrence and exposure. In: Fishbein L, O'Neill IK, eds. *Enviromental carcinogens methods of analysis and exposure measurement*. Lyon France: International Agency for Research Cancer, 97-108.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2010). Censo 2010 [The National Institute on Geography and Statistics. 2010 Count on population and housing]. Retrieved January 29, 2011, from <http://www.inegi.org.mx>

Iversen SD, Iversen L: *Behavioral Pharmacology*. 2^a ed. Oxford University Press, Nueva York, 1981.

Ito T, Yoshitome K, Horike T, et al. 2002. Distribution of inhaled m-xilene in rat brain and its effect on GABA_A receptor binding. *J Occup Health* 44(2):69-75.

Jhonston, G.A., Chebibi, M., Hanrahan, J.R., and Mewett K.N. GABA_C receptors as drug targets. *Curr. Drugs Targets CNS Neurol. Disord.*, 2003, 2:260-268.

Jhonston, G.A. Medical chemistry and molecular pharmacology of GABA_C receptors. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2002, 2:903-913.

Johnston L.D., O'Malley P.M., Bachman J.G., Monitoring the Future National survey results on drug use, 1975–2001, College students and adults ages 19–40, vol. II, National Institute on Drug Abuse, Bethesda, MD, 2002, NIH Publication No. 02-5107.

Johnston L.D., O'Malley P.M., Bachman J.G., Monitoring the Future National Results on Adolescent Drug Use: Overview of Key Findings, 2002, National Institute on Drug Abuse, Bethesda, MD, 2003 NIH Publication No. 03-5374.

Jones H.E., Balster R.L., Inhalant abuse in pregnancy, *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 25 (1998) 153–167.

Kalivas, P.W., and Duffy, P. Effect of acute and daily cocaine treatment on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *Synapse*, 1990, 5:48-58.

Kash TL, Trudell JR, Harrison NL. Structural elements involved in activation of the γ -aminobutyric acid type A (GABA_A) receptor. *Biochem Soc Trans.* 2004;32:540-546.

Kaukiainen A., Riala R., Martikainen R., Akila R., Reijula K., Sainio M., Solvent-related health effects among construction painters with decreasing exposure, *Am. J. Ind. Med.* 24 (2004) 627–636.

Koella, W.P., Animal experimental methods in the study of antiepileptic drugs. In: H.-H. Frey and D. Janz (Eds.), *Antiepileptic Drugs. Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 74, Springer, Berlin, 1985, pp. 283-339.

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.

Krall, R.L., Penry, J.K., White, B.G., Kupkrberg, H.J. and Swinyard, E.A., Antiepileptic drug development, II. Anticonvulsant drug screening, *Epilepsia*, 19 (1978) 409-428.

Kraut A, Lilis R, Marcus M, Valciukas JA, Wolff MS, Landrigan PJ. Neurotoxic effects of solvent exposure on sewage treatment workers. *Arch. Environ. Health.* 1988, 43; 236-8

Krinsky L. 1980. Personal Communication. Bureau of Veterinary Medicine, U.S. Food and Drug Administration.

Lara, M.A., Medina-Mora, M.E., Romero, M., & Domínguez, M. (1998). Un estudio cualitativo sobre el consumo de disolventes inhalables en estudiantes [A qualitative study on solvent use in adolescents]. *Salud Pública*, 10, 399-407.

Lee Y.L., Pai M.C., Chen J.H., Guo Y.L., Central neurological abnormalities and multiple chemical sensitivity caused by chronic toluene exposure, *Occup. Med.* 53 (2003) 479–482.

Lewis RJ. 2001. Xylene. In: Hawley's condensed chemical dictionary. 14th ed. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc., 1183-1185.

Littorin ME, Fheling C, Atwell RG, Skerfving S. Focal epilepsy and exposure to organic solvents: a case-referent study. *J. Occup. Med.* 1988;30:805-8.

Lobo, I. A. (2004). *Inhalants. Drugs: The straight facts.* New York: Chelsea House.

Lolin Y. Chronic neurological toxicity associated with exposure to volatile substances. *Hum. Toxicol* 1989, 8; 293-300.

López-Rubalcaba C, Hen R, Cruz SL: Anxiolytic-like actions of toluene in the burying behavior and plus-maze tests: differences in sensitivity between 5-HT (1B) knockout and wild-type mice. *Behav Brain Res*, 115:85-94, 2000.

Lopreato GF, Phelan R, Borghese CM, Beckstead MJ, Mihic SJ. Inhaled drugs of abuse enhance serotonin-3 receptor function. *Drug and Alcohol Depend.* 2003 May 1;70 (1): 11-5.

Löscher W., Fiedler M. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. VI. Seasonal influences on maximal electroshock and pentylenetetrazol seizure thresholds. *Epilepsy Research* 25 (1996) 3-10.

Löscher, W. and Schmidt, D., Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations, *Epilepsy Res.*, 2 (1988) 145-181.

Lubman, D. I., Yucel, M., & Lawrence, A. J. (2008). Inhalant abuse among adolescents; Neurobiological considerations. *British Journal of pharmacology.*

Macdonald RL and Barker JL (1978) Specific antagonism of GABA-mediated postsynaptic inhibition in cultured mammalian spinal cord neurons: a common mode of convulsant action. *Neurology* 28:325-330.

Marjot R., McLeod A.A., Chronic non-neurological toxicology from volatile substance abuse, *Human Toxicol.* 8 (1989) 301-306.

McNamara, J.O., *Farmacoterapia de las epilepsias.* En: Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11a ed. McGraw Hill. Cap. 19. Pág 501-525.

Miller P.W., Mycyk M.B., Leikin J.B., Ruland S.D., An unusual presentation of inhalant abuse with dissociative amnesia, *Vet. Hum. Toxicol.* 44 (2002) 17-19.

Miyawa, M., Honma, T., Sato, M., Hasegawa, H. (1984). Neurobehav. Toxicol. Teratol. 6(1), 33-7.

Murad, F., 1986. Cytosolic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. J. Clin. Invest. 78, 1]5.

Mutti A, Falzoi M, Romanelli A, Bocchi MC, Ferroni C, Franchini I. brain dopamine as target for solvent toxicity: Effects of some monocyclic aromatic hydrocarbons. 1988, 49; 77-82.

National Institute on Drug Abuse. (Rev., 2010b). info facts: Inhalant abuse. Retrieved March. 9, 2011, from <http://drugabuse.gov/PDF/Infofacts/Inhalants10.pdf>

National Institute on Drug Abuse, National institutes of Health, U.S. Department of Health & Human Services. (2004). NIDA infofacts. Inhalants. www.drugabuse.gov.

Nelson, G.A. (1971). Controlled Test Atmospheres. Principles and techniques. University of California Press.

Nestler EJ, Hyman SE, Malenka RC: Molecular Neuropharmacology. A Foundation for Clinical Neuroscience. McGraw-Hill, USA, 2001.

NIDA: National Institute on Drug Abuse Meeting, Inhalant Abuse Among Children and Adolescents: Consultation on Building an International Research Agenda, National Institutes of Health, Washington, D.C., 2005 Available on http://international.drugabuse.gov/meetings/inhalant_presentations.html.

NIOSH. Organic solvent neurotoxicology. In: Current Intelligence Bulletins, Publication No. 87-104 (48). Atlanta: CDC, 1987.

NIOSH Registry of toxic effects of chemicals substances. Cincinnati, OH: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health (1995).

Páez Martínez N., López R.C., Cruz S.L., Avances recientes en la investigación de los mecanismos celulares de acción de los disolventes de abuso. Salud Mental Vol. 6, No. 5, 2003.

Palencia G., Calvillo M., Benita A. & Sotelo J. Effects of chronic inhalation of volatile solvents, malnutrition and their interaction on seizures induced by pentylenetetrazole in rats. Addiction Biology Vol. 3, No 4, 454-457, 1998.

Pearson M.A., Hoyme H.E., Seaver L.H., Rimsza M.E., Toluene embryopathy: delineation of the phenotype and comparison with fetal alcohol syndrome, *Pediatrics* 93 (1994) 211–215.

Purpura, D.P., Penry, J.K., Tower, D., Woodbury, D.M. and Walter, R. (Eds.), *Experimental Models of Epilepsy - A Manual for the Laboratory Worker*, Raven Press, New York, 1972.

Ramamjaneyulu R and Ticku MH (1984) Interactions of pentamethylenetetrazol and tetrazole analogues with the picrotoxin site of the benzodiazepine-GABA receptor-ionophore complex. *Eur J Pharmacol* 98:337-345.

Rees DC, Knisely JS, Breen TJ, Balster RL: Toluene, halothane, 1,1,1-trichloroethane and oxacepam produce ethanol-like discriminative stimulus effects in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 243:931-7,1987.

Rehavi M, Skolnick P and Paul SM (1982) Effects of tetrazole derivatives on [³H] diazepam binding in vitro: correlation with convulsant potency. *Eur J Pharmacol* 78:353-356.

Riegel, A. C., & French, E. D. (1999). Acute toluene induces biphasic changes in rat spontaneous locomotor activity which are blocked by remoxipride. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 62, 399-402.

Ritchie G.D., Rossi, J. Nordholm A.F., Still K.R., Carpenter R.L., Wenger G.R., Wright D.W., Effects of repeated exposure to JP-8 jet fuel vapor on learning of simple and difficult operant tasks by rats, *J. Toxicol. Environ. Health* 64 (2001) 385–415.

Ribeiro, J.A., 1991. Purinergic regulation of transmitter release, in: *Adenosine and Adenine Nucleotides as Regulators of Cellular Function*, ed. J.W. Phillis (CRC Press, Boca Raton) p.155.

Rosenberg N.L., Neuropsychologic impairment and MRI abnormalities associated with chronic solvent abuse, *J. Toxicol., Clin. Toxicol.* 40 (2002) 21–34.

Saddik B., Williamson A., Nuwayhid I., Black D., The effects of solvent exposure on memory and motor dexterity in working children, *Public Health Rep.* 120 (2005) 657–663.

SAMHSA: Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Results from the 2002 National Survey on Drug Use and Health: National Findings (Office of Applied Studies, NHSDA Series H-22, DHHS Publication No. SMA 033836). Rockville, MD., 2003.

Schmith, D. and Morselli, P.L. (Eds.), *Intractable Epilepsy: Experimental and Clinical Aspects*, Raven Press, New York, 1986.

Sharp, C.W., 1992. Introduction to inhalant abuse. In: Sharp, C.W., Beauvais, F., Spence, R. (Eds.). *Inhalant Abuse: A Volatile Research Agenda*. NIDA Research Monograph 192. NIH Publication No. 93-3480, Institute on Drug Abuse, Rockville, MD, pp. 1-10.

Sharp C.W., Rosenberg N.L., Inhalants, in: J.W. Lowinson (Ed.), *Substance Abuse: A Comprehensive Textbook*, Williams and Wilkins, Baltimore, 1992, pp. 246-264

Sharp, C. W., Rosenberg, N., & Beauvis, F. (2008). Substance abuse: Inhalant- related disorders. In A. Tasman, J. Kay, J. A. Lieberman, M. B. First, & M. Maj (Eds.), *Psychiatry* (3rd ed., pp. 1127-1148). New York, NY: Jhon Wiley.

Shih C.L., Chen H.H., Chiu T.H., Acute exposure to trichloroethylene differentially alters the susceptibility to chemoconvulsants in mice, *Toxicology* 162 (2001) 35-42.

Sigell, L.T., Kapp, F.T., Fusaro, G.T., Nelson, E.D., Falck, R.S., 1978. Popping and snorting volatile nitrites: A current fad for getting high. *Am. J. Psychiatry* 135, 1216] 1218.

Silva-Filho A.R., Pires M.L.N., Shiotsuki N., Anticonvulsant and convulsant effects of organic solvents, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 41 (1992) 79–82.

Squires RF, Saedrup E, Crawley JN, Skolnick P and Paul SM (1984) Convulsant potencies of tetrazoles are highly correlated with action on GABA/benzodiazepine/picrotoxin receptor complex in brain. *Life Sci* 35:1439-1444.

Stengard K., Höglund 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.* (1994) 245–255.

Stoleman I: Drug of abuse: behavioural principles, methods and terms. *Trends Pharmacol Sci*, 13:170-176, 1992.

Swinyard, E.A., Laboratory assay of clinically effective antipileptic drugs, *J. Am. Pharm. Assoc.*, 38 (1949) 201-204.

Swinyard, E.A., Laboratory evaluation of antiepileptic drugs. Review of laboratory methods, *Epilepsia*, 10 (1969) 107-119.

Swinyard, E.A., Electrically induced convulsions. In: D.P. Purpura, J.K. Penry, D. Tower, D.M. Woodbury and R. Walter (Eds.), *Experimental Models of Epilepsy -A Manual for the Laboratory Worker*, Raven Press, New York, 1972, pp. 433-458.

Swinyard, E.A., Brown, W.C. and Goodman, L.S., Comparative assays of antiepileptic drugs in mice and rats, 3. *Pharmacol. Exp. Ther.*, 106 (1952) 319-330.

Tillar, R., Shafer, T.J., Woodward, J.J., 2002. Toluene inhibits voltage-sensitive calcium channels expressed in pheochromocytoma cells. *Neurochem. Int.* 41, 391–397.

Von Euler M., Pham T.M., Hillefors M., Bjelke B., Henriksson B, Von Euler G., Inhalation of low concentrations of toluene induces persistent effects on a learning retention task, beam-walk performance, and cerebrocortical size in the rat, *Exp. Neurol.* 163 (2000) 1–8.

Warren D.A., Bowen S.E., Jennings W.B., Dallas C.E., Balster R.L., Biphasic effects of 1,1,1-trichloroethane on the locomotor activity of mice: relationship to blood and brain solvent concentrations, *Toxicol. Sci.* 56 (2000) 365–373

White, R.F., \$ Proctor, S. P. (1997). Solvents and neurotoxicity. *The Lancet*, 349, 1239-1243.

Williams, J. F., Storck, M. ; The Committee on Substance Abuse (Committee on Native American Child Health). 2007). Inhalant abuse. *American Academy of Pediatrics*, 119, 1009-1017.

Wiley JL, Bale AS, Balster RL: Evaluation of toluene dependence and cross-sensitization to diazepam. *Life Sci*, 72:3023-33, 2003.

Wiley J.L., Fagalde R.E., Buhler K.G., LaVecchia K.L., Balster R.L., Evaluation of 1,1,1-trichloroethane and flurothyl locomotor effects following diazepam treatment in mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 71. (2002) 163–169.

Wilkins-Haug L., Teratogen update: toluene, *Teratology* 55 (1997) 145–151.

Wilkins-Haug L., Gabow P.A., Toluene abuse during pregnancy: obstetric complications and perinatal outcomes, *Obstet. Gynecol.* 77 (1991) 504–509.

Wood R.L., Lioffi C., Long-term neuropsychological impact of brief occupational exposure to organic solvents, *Arch. Clin. Neuropsychol.* 20 (2005) 655–665.

Wood RW, Coleman JB, Schuler R, Cox C: Anticonvulsant and antipunishment effects of toluene. *J Pharmacol Exp Ther*, 230:407-12, 1984.

Woodbury, D.M., Role of pharmacological factors in the evaluation of anticonvulsant drugs, *Epilepsia*, 10 (1969) 121-144.

Woodbury, L.A. and Davenport, V.D., Design and use of a new electroshock seizure apparatus, and analysis of factors altering seizure threshold and pattern, *Arch. Int. Pharmacodyn. Thtr.*, 92 (1952) 97-107.

Woodward J.J., Nowak M., Davies D.L., Effects of the abused solvent toluene on recombinant P2X receptors expressed in HEK293 cells, *Mol. Brain Res.* 125 (2004) 86–95.

Yamanouchi N, Okada S, Kodama K, *et al.* white matter changes caused by chronic solvent abuse. *Am. J. Neuroradiol* 1995, 16;1643-9.

Yanagita T, Takahashi S, Ishida K, Funamoto H: Voluntary inhalation of volatile anesthetics and organic solvents by monkeys. *Jpn J Clin Pharmacol*, 1:13-16, 1970.

Yavich L, Zvartau E: A comparison of the effects of individual organic solvents and their mixture on brain stimulation reward. *Pharmacol Biochem Behav*, 48:661-4, 1994.

Yavich L., Patkina N., Zvartau E., Experimental estimation of addictive potential of a mixture of organic solvents, *Eur. Neuropsychopharmacol.* 4 (1994) 111–118.

Yonekawa , W.D., Kupferberg, H.J., and woodbury, D.M.: Relationship between pentylenetetrazole-induced seizures and brain pentylenetetrazole levels in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 214: 589-593, 1980.