

222
2y'



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

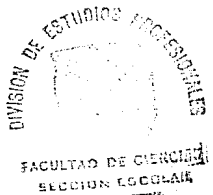
FACULTAD DE CIENCIAS

"EFECTO DE LOS VAPORES DE TOLUENO EN EL
DESARROLLO DE LAS NEURONAS PIRAMIDALES DE
LA CORTEZA VISUAL DE CRIAS DE RATAS WISTAR
TRATADAS DURANTE LA ADOLESCENCIA
O LA GESTACION"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
ARMANDO VALENZUELA PERAZA

MEXICO, D. F.

1992



TESIS CON
SALA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

RESUMEN

I	INTRODUCCION.....	1
	1) Desarrollo del sistema nervioso.....	2
	2) La corteza visual, área estriada o área 17.....	4
	3) Descripción neuronal.....	8
	4) Descripción de las espinas dendríticas.....	10
	5) Conexiones de la corteza cerebral.....	11
	6) Periodos críticos del desarrollo cerebral.....	13
	7) Disolventes orgánicos.....	17
	8) Estudios experimentales en animales.....	19
II	OBJETIVO.....	21
III	HIPOTESIS.....	21
IV	MATERIAL Y METODO.....	22
	1) Animales de experimentación.....	22
	2) Técnica de exposición y dosis.....	23
	3) Procesamiento de tejidos.....	23
	4) Análisis morfométrico.....	24
V	RESULTADOS.....	26
	1) Análisis de espinas dendríticas.....	26
VI	DISCUSION.....	28
VII	CONCLUSIONES.....	33
VIII	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	34

RESUMEN

Se sabe, por medio de experimentos en animales, que la inhalación de vapores de tiner o tolueno produce alteraciones microscópicas en el sistema nervioso central, tales como neuronas piramidales con tallo acanalado, hipertrofia neurofibrilar entre otras.

Por lo que el presente trabajo de tesis tiene como objetivo determinar las alteraciones anatómicas en neuronas piramidales de la V capa de la corteza visual de ratas lactantes de madres sometidas a inhalación de tolueno durante la adolescencia o la gestación.

Grupos experimentales de ratas se sometieron a inhalación de tolueno a una concentración de 40 000 ppm durante 15 minutos al día.

Tres ratas jóvenes fueron tratadas desde el día 70 hasta el día 90 de edad y después de la inhalación se cruzaron; tres ratas adultas se expusieron al solvente después de la cruce.

De manera simultánea se mantuvieron tres hembras control manejadas de manera idéntica a las experimentales pero sin tolueno y tres hembras testigo mantenidas en condiciones normales de bioterio. Doce crías de cada grupo fueron sacrificadas a los 14 y 21 días postnatales.

Fragmentos de corteza cerebral conteniendo al Área visual fueron procesados por el método de Golgi-Rápido. Se cuantificó el

número de espinas en segmentos de 50 micras de la dendrita principal en neuronas piramidales de la V capa.

Las espinas dendríticas disminuyeron significativamente en todos los segmentos en los grupos tratados en comparación con los testigos. Los resultados indican que la inhalación en la etapa adolescente o durante el embarazo afecta a la descendencia en los procesos de maduración de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales en el Área visual.

I INTRODUCCION.

Existen diversas situaciones ambientales que inciden de manera aislada o conjunta sobre el desarrollo de los organismos. Cuando estas condiciones se ven alteradas, el individuo responde de acuerdo a su capacidad adaptativa, con mecanismos tendientes a eliminar los efectos nocivos e irreversibles para el desarrollo estructural y funcional de los sistemas de la economía. Dichos metabolismos compensadores pueden ser ineficientes, debido a la crudeza de las condiciones ambientales. En este sentido se sabe que la falta de estímulos visuales, auditivos y motores, así como el uso de psicotrópicos entre otros los inhalantes, condicionan alteraciones del tejido nervioso, representadas por reducción del peso corporal, retraso de la mielinización, disminución de la densidad del árbol dendrítico, transformación de espinas sinápticas, detención del desarrollo neuronal y glial, así como destrucción total de neuronas(8,21,44,45).

1) Desarrollo del sistema nervioso.

El sistema nervioso asegura la regulación de todos los procesos vitales en el organismo y su relación con el medio exterior. Desde un punto de vista anatómico el sistema nervioso se divide en central y periférico. Al sistema nervioso central pertenecen el encéfalo y la médula espinal, y al periférico los ganglios nerviosos y las terminaciones (29).

El esbozo del sistema nervioso central humano aparece en el embrión presomítico, durante la tercera semana del desarrollo debido a que el complejo cordomesodérmico, constituido por tres categorías de mesodermo, el axial o notocordal, el cefálico y el somítico o paraxial, liberan evocadores sustancias químicas que actúan como hormonas morfogénicas, responsables de inducir al neuroectodermo a diferenciarse en la placa neural de contorno piriforme, con la región cefálica más amplia que la caudal, flanqueada por dos bandas de neuroectodermo que darán origen a las crestas neurales. La placa neural es un epitelio engrosado, constituido por células alargadas, con núcleos colocados a diferentes niveles y membranas muy delgadas. Cuando la placa neural alcanza su máximo espesor empieza a invaginarse en sentido longitudinal, adquiriendo el aspecto de una zapatilla al desarrollarse el primordio del surco neural, el cual se profundiza paulatinamente hasta que, al principio de la cuarta semana cuando el embrión tiene siete pares de somitas, sus bordes se fusionan para formar el tubo neural, a la altura del cuarto o sexto par de somitas, a partir de este momento el cierre del tubo neural, progresará en sentido cefálico y caudal (2,29).

Mecanismos que intervienen en el cierre del tubo neural. Las células neuroepiteliales inicialmente cuboides, presentan en su citoplasma microtúbulos y microfilamentos dispersos al azar. Estos se reorganizan al elongarse las células de la placa neural y durante la formación del surco neural, de tal manera que los microtúbulos, al adquirir una orientación paralela al eje mayor de las células neuroepiteliales las induce a aumentar su longitud. Los microfilamentos de actina colocados en el borde apical, se unen a los desmosomas que ponen en contacto a las células mediante la espectrina, proteína constitutiva de sus membranas plasmáticas y van reduciendo su ápice, al actuar como la jareta de una bolsa, provocando primero la formación del surco neural y más tarde la del tubo neural.

Desarrollo de las cavidades del sistema nervioso central.

La región cefálica de la placa neural es más amplia y antes de que se cierre el tubo, por crecimiento diferencial de sus paredes, forma el esbozo de las futuras vesículas cerebrales primitivas: el procencéfalo o cerebro anterior; el mesencéfalo o cerebro medio y el rombencéfalo o cerebro posterior. En cambio la región caudal, que formará la médula espinal, es de menor amplitud y mantiene un ritmo de crecimiento similar en toda su longitud (10,11,15). Al momento del nacimiento quedan terminados prácticamente la proliferación y la diferenciación de las neuronas corticales. Durante la ontogénesis postnatal no ocurren cambios fundamentales en la composición de la corteza sino que el desarrollo es continuado por maduración y crecimiento de las ramificaciones dendríticas y axonales de las neuronas así como de un aumento de las espinas dendríticas.

2) La corteza visual, Área estriada o Área 17.

El avance primordial en la evidencia de la organización estructural de la corteza cerebral sucedió en 1886, cuando Camilo Golgi neurohistólogo italiano descubrió la morfología de las células piramidales y descubrió además las células de axón corto que llevan su nombre, Golgi tipo II, que se ramifican dentro de la corteza. Santiago Ramón y Cajal (1891) incorporó más información de otros axones que seguían un curso horizontal y más tarde Retzius las llamó células horizontales de Cajal.

Para 1903, Campbel comprobó que el cerebro de muchos mamíferos, así como el del humano, poseen regiones con estructuras específicas, asegurando que había veinte en el humano, de las cuales describió la estructura celular y fibrilar. Lorente de Nó en 1938, propuso que la estratificación para el isocortex frontal y perifrontal era puramente hipotético, no así para el isocortex parietal, temporal y occipital, para los cuales se podía indicar un plan de estratificación. Según su organización se dividen en lámina externa que cuenta con: la capa I o plexiforme; capa II o de piramidales pequeñas; capa III o de piramidales medianas; capa IVa o de piramidales estrelladas, la capa IVb o de células estrelladas, a la lámina interna la componen la capa V o de piramidales grandes y profundas y la capa VI o de células grandes con pocas espinas (25).

Como se indicó existe gran cantidad de animales cuyo cerebro tiene estratificación similar a la del humano, de los cuales tenemos el mono, el gato, la rata y el ratón. Los estudios llevados a cabo en estas especies de mamíferos, revelan que muchas características morfológicas no cambian, por ejemplo el arreglo de las dendritas, de los axones y las sinápsis, no así la forma, tamaño y número de células. Tomando en cuenta el gran parecido cortical entre estos organismos se pueden hacer estudios comparativos de la corteza visual a nivel anatómico y fisiológico.

La corteza visual se localiza dentro de la región occipital de los hemisferios cerebrales, consiste de tres áreas corticales, 17, 18 y 18a, que pueden distinguirse unas de otras, por medio de la tinción de Nissl, basándose en el tamaño, forma y densidad de paquetes de las neuronas que contienen (39). Fue Krieg en 1946 quien primero dió una descripción clara de estas tres áreas, definió el área 17, visual primaria o área estriada, como una área caracterizada por tener paquetes de neuronas pequeñas dentro de la capa IV, siendo una característica común con las otras áreas sensoriales de la corteza (24). El área 17 está limitada medialmente por el área 18 y hacia los lados por el área 18a, estas dos juntas forman la corteza periestriada (fig.1).

La corteza del área 17 de la rata es elegida, por la mayoría de los investigadores, porque desde el punto de vista microscópico la arquitectura de la corteza cerebral es similar a la de varias formas superiores de mamíferos, como los primates, por lo que la hacen un modelo ideal para estudios experimentales,

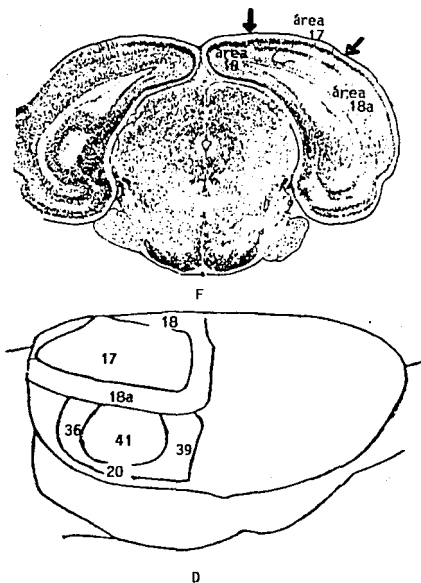
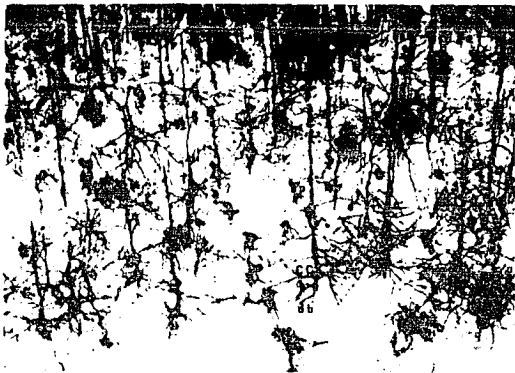


Fig.1. Corte frontal (F) de la corteza cerebral de la rata, en donde se muestra localizada el área 17 (Paxinos y Watson, 1982). Se muestra también un esquema en vista dorso lateral (D) en donde se observa el área 17 rodeada por las áreas 18 y 18a (Según Cipollom y Peters, 1979).

ya que es plana y relativamente delgada. La corteza del Área 17 del cerebro de la rata tiene entre 1.3 y 1.5 mm de espesor y en común con la neocorteza de otros mamíferos en preparaciones teñidas con Nissl muestra seis capas. Estas seis capas las podemos clasificar por la forma de las neuronas, el destino de sus axones, y la ubicación y la forma de las fibras aferentes que traen impulsos a cada una de estas regiones (39).

La clasificación neuronal se ha hecho en base a las observaciones de material teñido con el método de Nissl que resalta el cuerpo celular y en impregnaciones con el método de Golgi, la que realza el cuerpo neuronal y los elementos neuronales. Por su forma se clasifica a las neuronas en piramidales y no piramidales. Las neuronas piramidales típicas son las que presentan un soma triangular, pero algunas lo pueden presentar en forma ovoide, tienen también dendritas apicales y basales. A la dendrita más larga se le llama dendrita apical la que se dirige hacia la piamadre, la cual puede o no llegar a la capa molecular o capa I y aquí se ramifica en un penacho terminal, de ella se forman dendritas oblicuas. Las dendritas basales o primarias, se van a originar del cuerpo de la neurona, las que se extienden hacia arriba y hacia abajo (fotomicrografías 1 y 2). Así mismo se encuentran otras formas de células piramidales en la corteza visual de la rata, las que difieren en su apariencia. En general las neuronas piramidales tienen numerosas espinas en las dendritas (40) (fotomicrografías 3 y 4).



Fotomicrografia 1.- Vista panoràmica de la distribución de las neuronas en un corte frontal de la corteza cerebral de rata Wistar. Cuerpo celular (cc); dendrita principal (dp); dendritas basales (db). 79 aumentos.



Fotomicrografia 2.- Acercamiento de una neurona piramidal de la capa V de la corteza visual de rata Wistar. Cuerpo celular (cc); dendrita principal (dp); dendritas basales (db). 200 aumentos.

Otra clasificación se basa en la distribución del axón, encontrándose principalmente cuatro formas: 1) Neuronas corticales con axones que descienden y que por lo regular llegan a la sustancia blanca, los que se continúan con las fibras de proyección y de asociación, que son las neuronas de Golgi tipo I. 2) Neuronas que presentan axón corto y que se ramifica muy cerca del cuerpo neuronal, llamadas neuronas Golgi tipo II. 3) Neuronas con un axón que baja y que se ramifica en una o varias capas corticales ó células en candil y 4) En neuronas que presentan axones en forma horizontal y que reciben el nombre de células amacrinas(35).

3) Descripción neuronal.

Las neuronas piramidales presentan cuerpo triangular u ovoide, tienen dendritas apicales y basales. Las dendritas apicales se dirigen hacia la superficie de la piamadre y pueden o no llegar a la capa molecular donde se ramifica en un penacho terminal, de ella también se forman dendritas basales o primarias que se originan del cuerpo de la neurona y se extienden hacia arriba o hacia abajo.

Diversos investigadores que han realizado estudios al microscopio electrónico de neuronas de diferentes especies de mamíferos, proponen que las células piramidales presentan sólo sinápsis simétricas axosomáticas en su cuerpo celular. Las neuronas piramidales se encuentran en todas las capas con excepción de la capa I y VIb (Fig.2). Mientras que las neuronas no piramidales están representadas en todas las capas de la corteza, y tienen como característica importante un axón que se distribuye de manera total en el interior de la corteza, el cual se ramifica en las partes cercanas al cuerpo celular. Las neuronas no piramidales presentan sinápsis axosomáticas las cuáles pueden ser tanto simétricas como asimétricas.

Hay tres formas de neuronas no piramidales tomando en cuenta los patrones dendríticos: a) neuronas bipolares (Fig.3) b) neuronas multipolares (Fig.4) y birramificadas (Fig.5) y c) neuronas en candil (Fig.6) (40,14) . De las neuronas bipolares se tienen dos tipos, que pueden ser, pequeñas o grandes, sus

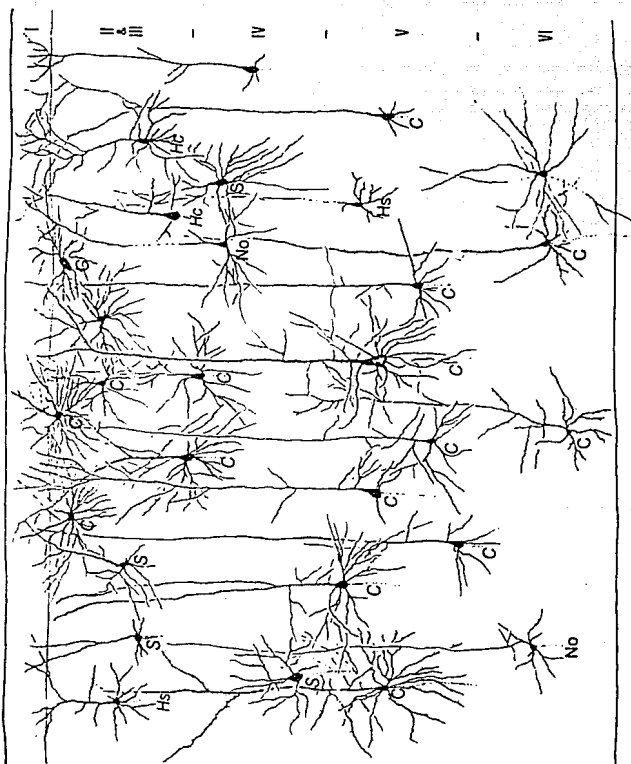


Fig. 2. Dibujo con cámara lúcida ilustrando la distribución y morfología de varios tipos celulares inyectando peroxidasa de rábano en la corteza visual de la rata. C, compleja; S, simple; Hc, compleja hipercompleja; Hs, simple hipercompleja; No, no orientadas. (Según Parnavelas y col., 1983).

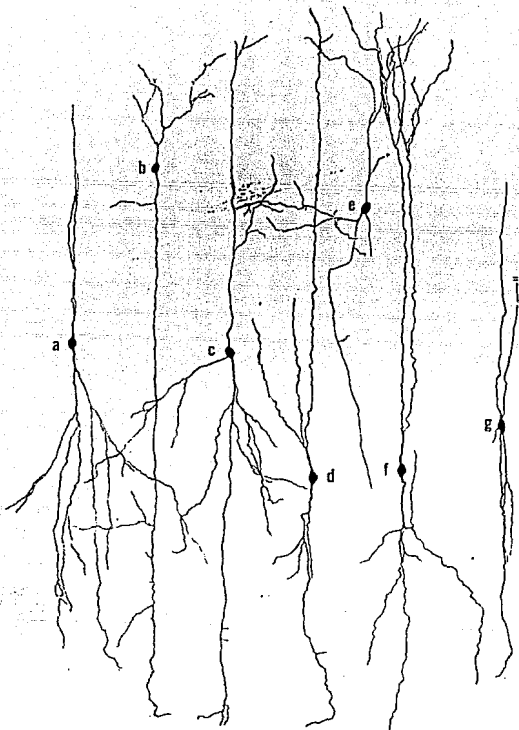


Fig. 3 . Ejemplos de neuronas bipolares. Célula de la capa superior II/III; célula e de la mitad de la capa II/III; las células a, c, f y g de la capa IV; célula d de la capa V. Todas las células ilustradas están libres de espinas, aunque existen también células bipolares parcialmente espinosas. (Feldman y Peters, 1978).

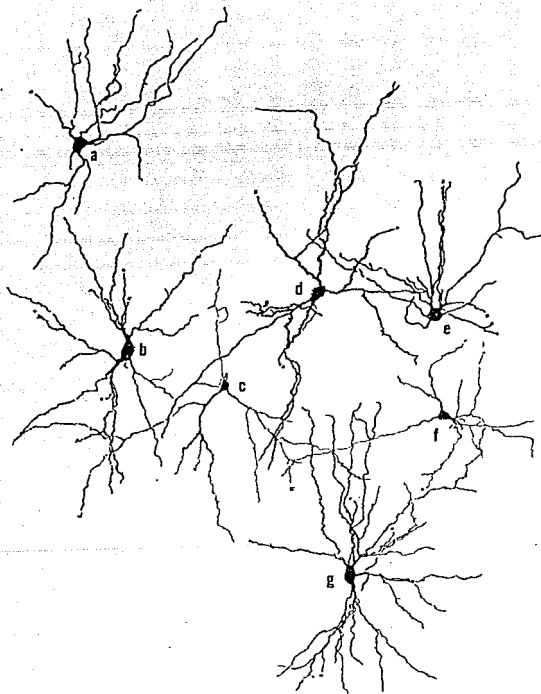


Fig. 4 . Ejemplos de neuronas multipolares parcialmente espinosas. Célula a de la capa superior II/III; célula b de la mitad de las capas II/III; célula c de la capa IV; células d, e y f de la capa V; célula g de la capa VI. (Feldman y Peters, 1978).

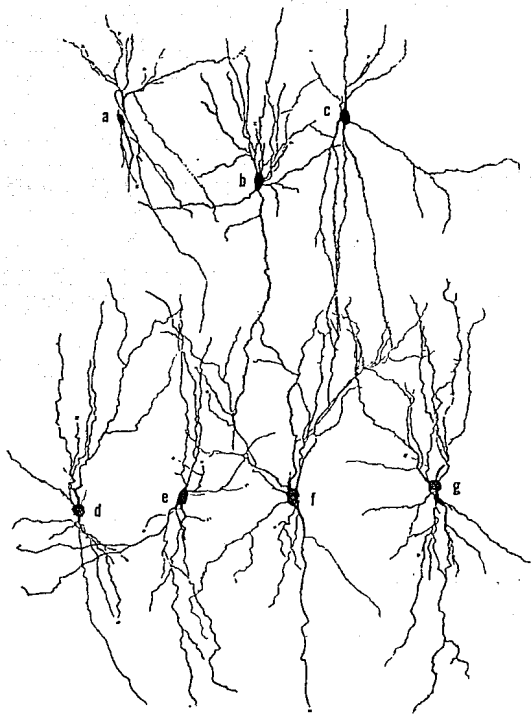


Fig. 5 - Ejemplos de neuronas birramificadas. Células a, b y c de la capa IV; células d, e, f y g de la capa V. Célula e libre de espinas. (Feldman y Peters, 1978).

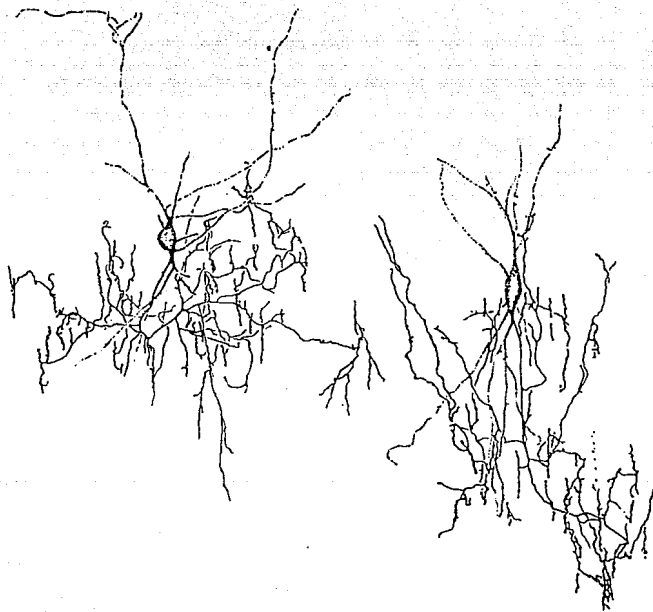


Fig. 6 . Ejemplos de neuronas en candil de la corteza visual de la rata. Dibujos con cámara lúcida. (Peters y col. 1982).

cuerpos son alargados o en forma de huso, con pocas sinápsis axodendríticas, y menor grado las axosomáticas. En ambas se forman sinápsis simétricas y asimétricas. Presentan axones largos orientados hacia la superficie pial. Del polo superior o inferior del cuerpo de la neurona se extiende la dendrita primaria que puede ser ascendente o descendente, pero por lo regular siempre emerge del polo superior. Generalmente el axón se origina de la dendrita primaria. Las neuronas multipolares y birramificadas presentan dendritas con pocas espinas o sin espinas. Las primeras tienen cuerpo esférico del cual salen dendritas para formar un árbol dendrítico esférico, aunque también las dendritas que emergen del cuerpo neuronal forman un cuerpo alargado. Las neuronas birramificadas, presentan cuerpos ovales pero más angulosos ya que la mayoría de las dendritas se extienden del polo superior o inferior del cuerpo (14). Las neuronas en candil se encuentran en las capas II, III y VI de la corteza visual, la mayor parte de ellas son bifurcadas y las dendritas se extienden tanto de la parte superior como inferior del cuerpo alargado. Del polo superior del cuerpo neuronal emerge el axón o de la base de una de las dendritas inferiores, el carácter principal es que cuando ascienden los axones se ramifican hacia los lados y forman un candil estableciendo sinápsis axoaxónicas a lo largo del segmento inicial del axón de las neuronas piramidales de las capas II y III (42).

4) Descripción de las espinas dendríticas.

La descripción de las espinas dendríticas fué hecha por primera vez en 1891, por Santiago Ramón y Cajal en impregnaciones hechas con el método de Golgi, quien encontró ligeros levantamientos en las dendritas de las neuronas piramidales de la corteza cerebral de mamíferos llamándolas espinas dendríticas, además señaló que la función principal de éstas era la de incrementar el área receptora de las dendritas y ayudar de esta manera a la formación de sinápsis axodendríticas (3). En la actualidad se reconoce que las espinas dendríticas son estructuras específicas en las que se llevan a cabo las conexiones axoespinodendríticas (27).

Las espinas son abultamientos apendiculares que constan de una parte distal globosa o cabeza de la espina y un tallo que conecta a la cabeza con la dendrita. Las espinas son de tres tipos, romas, fungiformes y filiformes, identificadas en impregnaciones argénticas de las neuronas piramidales de la corteza parietal (43). En la región cercana a la dendrita principal se encuentra un número mínimo de espinas, pero conforme aumenta la distancia con respecto al cuerpo neuronal ésta presenta mayor cantidad de espinas dendríticas. La sinápsis más frecuentes en las neuronas que tienen gran cantidad de espinas son del tipo axoespinodendrítico, a las que se les relaciona de manera funcional con impulsos eferentes (28) (fotomicrografías 3 y 4).



Fotomicrografia 3.- Dendrita principal de la neurona piramidal. Se aprecian las espinas dendriticas (E). 500 aumentos.



Fotomicrografia 4.- Dendrita principal de la neurona piramidal. Se aprecian las espinas dandríticas (E). 1125 aumentos.

5) Conexiones de la corteza cerebral.

A la corteza visual llegan tres tipos de fibras aferentes, uno formado por proyecciones de fibras aferentes específicas que se originan del tálamo y del cuerpo geniculado externo, mientras que las del geniculado interno se desplazan hasta la corteza acústica y las fibras que provienen del tálamo llegan al área cortical somatosensorial. También se han identificado que ascienden a las capas VI y V ramificándose en la capa IV y algunas ramificaciones siguen ascendiendo para llegar a la capa III. El segundo tipo lo forman las fibras aferentes corticales de proyección inespecífica que se encuentran en todas las capas corticales. El tercero lo constituyen las fibras aferentes de asociación las cuales provienen de otras áreas corticales o de hemisferios opuestos, a través de las fibras del cuerpo calloso.

El área visual se interconecta en forma recíproca con las áreas 18a y 18b originándose en las capas II, III y V. Como neurotransmisores corticales se tienen a las monoaminas dopamina, norepinefrina y serotonina, que son distintos desde el punto de vista anatómico y provienen de cuerpos celulares localizados en el tallo cerebral, de ellos la neocorteza recibe gran cantidad de proyecciones. Las proyecciones noradrenérgicas que llegan a la corteza cerebral provienen del Locus Coeruleus

que inervan las capas V y VI, en las capas II y III fibras noradrenérgicas radiales, mientras que en las capas I y VI fibras tangenciales. Las proyecciones serotoninérgicas que llegan a la neocorteza se originan del núcleo rafe dorsal, y ocupan la capa IV de manera densa, de manera menos densa las capas V y VI. Las proyecciones dopaminérgicas que se originan en la sustancia nigra y se prolongan a la corteza, son muy escasas, así como las proyecciones colinérgicas que provienen del complejo nuclear del telencéfalo basal y lateral (31,32). En general las neuronas monoaminérgicas aparecen muy temprano en la gestación, son las primeras en diferenciarse en el cerebro y sintetizan, almacenan y utilizan las sustancias transmisoras antes que se dé la maduración de la región cerebral que inervan (21).

6) Periodos críticos del desarrollo cerebral.

Para el humano los primeros tres meses de vida fetal es un periodo en que el cerebro adquiere la forma adulta. Este mismo proceso en la rata ocurre dentro de las primeras dos semanas de vida fetal. Cuando las células son destinadas a dividirse en células nerviosas, se denomina periodo uno de "multiplicación neuroblástica", esto es $2/3$ del tiempo de gestación en la rata y hacia la mitad del embarazo en el humano. Al final de este periodo de la vida el humana se posee el número de células nerviosas del adulto, aunque todavía se requiere mucho más desarrollo de ellas. No es sino cerca del nacimiento de la rata, siguiendo el periodo de multiplicación neuronal, cuando el crecimiento rápido del cerebro empieza, así se puede asumir que las restricciones impuestas en este lapso no afectaría el número de neuronas excepto en áreas donde la neurogénesis ocurre más tarde. Sin embargo puede afectar su desarrollo temprano.

El próximo evento fácilmente medible (estimando el incremento cuantitativo del DNA nuclear en el tejido) es un periodo de numerosas divisiones de células gliales del cerebro. Estas células nerviosas eventualmente abundantes y su periodo de multiplicación son mucho más conspicuas durante la primera mitad del periodo de crecimiento rápido del cerebro, desde casi el nacimiento a los 12 días postnatales en la rata. Este periodo muestra la multiplicación espongioblástica (células gliales). Durante el desarrollo muchas de ellas tienen que ver con la

manufactura de la vaina de mielina, este aislamiento, laminado o envoltura de fosfolípidos ayuda a conducir los impulsos en forma rápida. La misma mielinización puede ser medida estimando el incremento cuantitativo de la mielina en el crecimiento del cerebro durante este tiempo, y se muestra fácilmente que la mayor parte de la fase rápida de mielinización ocupa la segunda mitad del crecimiento rápido del cerebro, esperando el arribo de las células gliales las cuales hacen la mielina. La multiplicación de la célula glial, mielinización y incremento rápido en el peso del cuerpo son, sin embargo, solamente tres de los componentes más fácilmente medibles del crecimiento rápido del cerebro y no son necesariamente los más importantes desde el punto de vista funcional.

Tal vez lo más importante de esto es una gran proliferación de células nerviosas que pueden arribar antes de que empiece el crecimiento rápido y de su árbol dendrítico. Este proceso ocurre en el humano durante el crecimiento rápido del cerebro que es postnatal. La gran complejidad de la arborización dendrítica es importante ya que por este medio las células nerviosas están conectadas sin interrupción en un complejo circuito eléctrico por medio de las conexiones sinápticas (9,11,12).

Aunque no se conocen qué factores ponen en marcha y detienen el mecanismo de proliferación en cualquier región del sistema nervioso central, está claro que los instantes relativos en los que las diferentes poblaciones celulares dejan de dividirse están determinadas de manera muy precisa, lo que sugiere que ésta es una fase crítica en la vida de todas las

neuronas. Además parece que la pauta de conexiones que la célula formará queda determinada en este momento. Durante el desarrollo normal del cerebro la mayoría de las neuronas están sujetas a diversas influencias mecánicas locales que pueden modificar su forma. Es indudable que el número y distribución de los estímulos que las células reciben pueden afectar de manera crítica su forma final. La mayoría de las conexiones parecen quedar establecidas con precisión durante una fase precoz del desarrollo y hay muchas pruebas de que las conexiones formadas son específicas no solo a partir de regiones específicas del cerebro sino también de determinadas neuronas. En muchas partes del cerebro el tamaño final de la población neuronal queda establecido en dos etapas: una etapa precoz en la que se originan un número relativamente grande de células y otra etapa posterior en la que el número de neuronas se ajusta al tamaño del campo que inervan. En general el factor limitante que determina el número final de células es el número de contactos funcionales de que disponen los axones de las neuronas en desarrollo. El fenómeno de la eliminación de procesos y de sinápsis fué observado por primera vez en la inervación de los músculos de las extremidades de ratas jóvenes. Mientras que en los animales maduros la mayor parte de las células musculares están inervadas por un solo axón, durante la primera semana postnatal puede demostrarse que hasta 5 ó 6 axones distintos forman sinápsis con cada fibra muscular. En el transcurso de las dos o tres semanas siguientes los axones adicionales son eliminados sucesivamente, hasta que sobrevive uno.

El cerebro en desarrollo es una estructura extremadamente

plástica. Aunque muchas regiones pueden estar "bien conectadas", otras como la corteza cerebral están expuestas a diversas influencias, tanto intrínsecas como extrínsecas (ambientales). La capacidad del cerebro para reorganizarse en respuesta a influencias o a cualquier lesión localizada es en la actualidad una de las áreas en las que más está trabajando la investigación neurobiológica, no solo por la obvia importancia de fenómenos tales como el aprendizaje y la memoria y por su influencia sobre la capacidad del cerebro para recuperarse después de la lesión, sino también debido a lo que revele acerca de su desarrollo normal (30).

7) Disolventes orgánicos.

El tolueno es una sustancia química neurotóxica que se encuentra en gran cantidad en los disolventes orgánicos como el tiner, el cemento y las lacas, el primero contiene aproximadamente (40% de tolueno, 25% de metanol, 9% de hexano, 5% de heptano, 2% de acetona, 0.5% de benceno, 0.5% de xileno), es de fácil acceso para la población. Y su inhalación se ha convertido en una de las formas de abuso más común en nuestro medio (26). Los efectos tóxicos que los disolventes orgánicos inhalables producen en el organismo son muy conocidos en lo que se refiere al daño que originan en los órganos hematopoyéticos, el sistema cardiovascular, los riñones, el aparato respiratorio y el hígado.

En el humano, se sabe que se producen los siguientes síntomas y lesiones en el organismo: euforia moderada, alucinaciones, desorientación, crisis epileptiformes y coma, previo nistagmus intenso. En el hígado hay crecimiento doloroso, con necrosis múltiples en el parénquima; en el riñón, además de áreas de necrosis y hemorragia se presenta albuminuria y leucocitosis; la médula ósea sufre destrucción paulatina, que lleva a anemia irreversible, trombocitopenia, granulocitopenia, disminución de la fagocitosis, ausencia de anticuerpos, lo que favorece las infecciones. Además en el hombre puber crónicamente inhalante puede presentarse inicio de ginecomastia; en la mujer

hay ovulación alterada con dismenorreas; si existe embarazo incipiente, puede producirse aborto espontáneo; en los testículos hay disminución de la espermatogénesis, con aberración cromosómica hemática; múltiples hemorragias cutáneas y en mucosas sobre todo en aparato digestivo y respiratorio; bronquitis crónica que llega al edema pulmonar. En el cerebro, se ha observado, sobre todo en los casos de intoxicación aguda, edema y congestión; en los casos de intoxicación crónica, los sujetos presentan insomnio y depresión que puede llevar a nuevas inhalaciones hasta el coma (8).

8) Estudios experimentales en animales.

Los experimentos realizados en animales comprueban que la inhalación crónica de tiner o tolueno produce alteraciones como neuronas piramidales con tallo acanalado, neuronas picnóticas y degeneradas e hipertrofia neurofibrilar, entre otras (8). Se señala decremento en el peso corporal y el hígado en crías de rata de 1 a 7 días y de 21 y 56 días postnatales, al exponerlas a vapores de tolueno a 80, 500 y 1000 ppm (19). Se describe también decremento en la actividad de la enzima $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPasa y alteraciones en la conducta de aprendizaje en ratas que inhalaron tolueno en forma crónica (4,5). Se reporta también decremento en el peso corporal, del cerebro y de la corteza cerebral, así como alteraciones en el contenido fosfolipídico neuronal en ratas expuestas a tolueno por 30 días a 320 ppm (22).

Si bien se han realizado muchos trabajos que dan información acerca del daño provocado en el sistema nervioso central en animales de experimentación en la literatura revisada no se encontraron datos en descendientes de animales que hayan inhalado tolueno. Por lo que el presente trabajo de tesis tiene como objetivo obtener información morfométrica acerca de algunos cambios neuronales que puedan resultar en crías de rata hembra expuestas en forma crónica a vapores de tolueno durante su adolescencia o durante el embarazo. Este trabajo corresponde a los hallazgos encontrados en las neuronas piramidales de la quinta capa de la corteza visual empleando la técnica de Golgi.

II OBJETIVO.

Determinar las alteraciones anatómicas en neuronas piramidales de la V capa de la corteza visual de ratas lactantes de madres sometidas a inhalación de tolueno durante la adolescencia o la gestación.

III HIPOTESIS.

El tolueno administrado a progenitores en 2 diferentes etapas de maduración, gestación y pubertad, afectará el desarrollo ulterior de las neuronas corticales de sus crías representadas por disminución en el número de espinas.

IV MATERIAL Y METODO.

1) Animales de experimentación.

Se utilizaron 12 ratas hembra de la cepa Wistar, 9 de ellas de 90 días de edad consideradas como adultas y 3 de 70 días consideradas como adolescentes, obtenidas del bioterio de la Unidad de Investigación en Salud Infantil-INP-SS, en condiciones libres de patógenos, mantenidas con alimento y agua a libre acceso y horario de luz oscuridad de 12 horas. Se alojaron en jaulas individuales hasta el momento del apareamiento en que se pasaron a jaulas familiares, donde se colocaron tres hembras con un macho para cruce.

Las ratas adolescentes y adultas fueron repartidas en cuatro grupos de la siguiente manera:

Tres ratas adultas para el grupo testigo (T) no recibió tratamiento.

Tres ratas adultas para el grupo campana (C) se mantuvieron en la campana de inhalación, pero no inhalaron tolueno.

Tres ratas adultas para el grupo gestante (G) se les dió tratamiento con tolueno durante la gestación.

Tres ratas adolescentes para el grupo adolescente (a) se le dió tratamiento con tolueno durante 21 días previos a la cruce.

Las ratas del grupo testigo se trasladaron a cajas individuales donde se mantuvieron todo el tiempo que duró el experimento.

2) Técnica de exposición y dosis.

La técnica de exposición para los grupos de ratas tratadas con tolueno, se realizó en recipientes de cristal con capacidad de 3700 ml en el que se agregaron 0.45 ml de tolueno (grado reactivo Merck), equivalente a una concentración de 40 000 ppm y se dejó evaporar durante 5 minutos con el fin de obtener una atmósfera homogénea, posteriormente se introdujo al animal. Este procedimiento se efectuó cada 24 horas durante 15 minutos, en un horario de entre las 10 y las 13 horas.

3) Procesamiento de tejidos.

Las camadas se ajustaron a 8 crías en el momento del nacimiento: 24 crías para cada grupo, de las cuales la mitad se sacrificó a los 14 días y la otra mitad a los 21 días. Las crías fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (50 mg por kg de peso) y se perfundieron por vía intracardiaca con solución de formol fosfatos al 10% pH 7.2, 0.1 M. Inmediatamente se procedió a extraer el cerebro, del cual se obtuvieron bloques del área visual de 2 mm de grosor que fueron tratadas según la técnica de Golgi(44). La cual consiste en pasar los bloques a solución de dicromato de potasio 2.4% y tetróxido de osmio al 0.2% durante 7 días. Se impregnaron en nitrato de plata 0.75% durante 24 horas. Más tarde se hicieron cambios de una hora c/u en alcoholes graduales 50, 60, 70, 80, 90, y 96%, se pasaron a una mezcla de

alcohol etílico y éter 1:1. En seguida se pasaron a soluciones de nitrocelulosa diluida en etanol y éter 1:1 en concentraciones de 2, 5, 10, 15 y 30%, cada cambio de 24 horas. Se incluyeron en una solución de nitrocelulosa al 30% logrando su polimerización con vapores de cloroformo durante 24 horas. Se obtuvieron cortes con el microtomo de deslizamiento de 90 micras de grosor, los cuales se deshidrataron en alcoholes graduales de 70, 80 y 90%, después se pasaron a una solución de propanol-alcohol absoluto, mas tarde a dos cambios de propanol, se aclararon en terpineol y xilol por 15 minutos, finalmente se montaron en potaobjetos con resina sintética.

4) Análisis morfométrico.

Los parámetros que se analizaron fueron: profundidad de las neuronas, longitud de los ejes mayor y menor del cuerpo neuronal y el número de espinas a lo largo de la dendrita principal en segmentos de 50 micras (fig.3).

Se seleccionaron las laminillas que contuvieran el área visual con ayuda del atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (38), y que presentaron neuronas impregnadas y se leyeron todas las neuronas piramidales de la V capa de la corteza visual.

La medición de la profundidad de las neuronas se llevó a cabo, midiendo desde la superficie de la corteza hasta la base del cuerpo neuronal.

El eje mayor del cuerpo neuronal se midió desde el origen de la dendrita principal, hasta la base de la neurona donde emerge el axón.

Para determinar el eje menor se midió el cuerpo neuronal

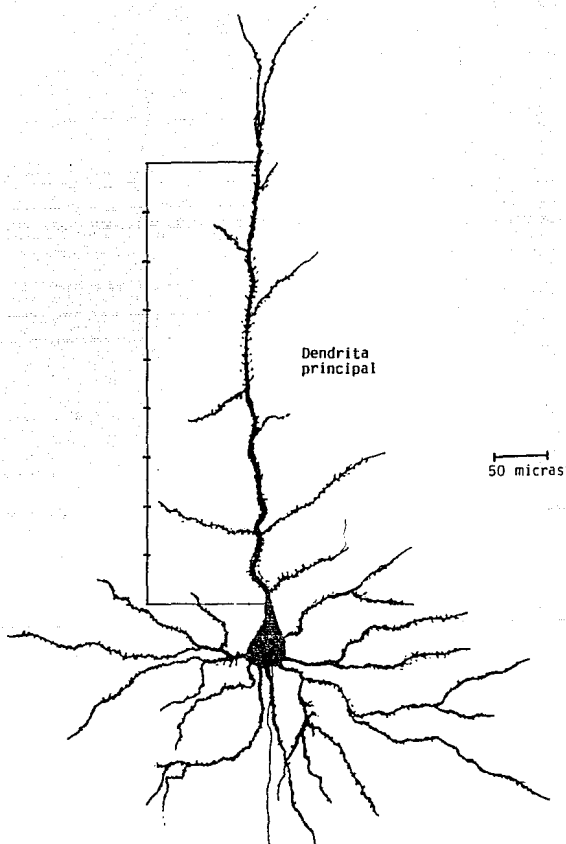


Fig.7. Dibujo con cámara lúcida de una neurona piramidal de la capa V de la corteza visual de la rata, mostrando el método de medición que se usó para la cuantificación del número de espinas dendríticas(40x).

en su porción transversal.

La cuenta de espinas dendríticas se llevó a cabo a lo largo de la dendrita principal en segmentos de 50 micras, se tomaron en cuenta las espinas dendríticas que se observaron a los lados de la dendrita principal, no así las anteriores y posteriores de la misma.

Las mediciones se llevaron a cabo en un microscopio de campo claro marca Zeiss, con reglillas oculares calibradas y con un objetivo de 100x de inmersión, excepto para la profundidad de las neuronas cuya medición se realizó mediante un objetivo de 10x.

Una vez que se concluyeron las mediciones de las neuronas piramidales de la V capa de la corteza visual, entonces se procedió a quitar la etiqueta que cubría los datos de edad y condición a la que correspondían cada una y los datos fueron analizados estadísticamente por medio del análisis de varianza y prueba de Tukey (paquete estadístico para las ciencias sociales y de la salud - SPSS versión 3.0). Consistió en comparar todos los grupos entre sí.

V RESULTADOS.

1) Análisis de espinas dendríticas.

Comparación del número de espinas entre los grupos testigo (T), campana (C), adolescente (a) y Gestante (G), a los 14 y 21 días de edad.

A los 14 días.

Testigo VS: C, a, G

El grupo adolescente presenta disminución significativa en todos los segmentos excepto en el primero en el que aumentó (gráficas 1-6). El grupo gestante exhibe disminución en todos los segmentos siendo significativa en el segmento de 150-200 micras, excepto en el primero en el que aumentó (gráfica 4).

Campana VS: a, G

El grupo adolescente muestra disminución significativa en todos los segmentos excepto en el primero en el que aumentó (gráficas 1-6). El grupo gestante exhibe disminución en todos los segmentos siendo significativa en los segmentos de 100-150, 150- 200, 200-250, 250-300 micras, excepto en el primero en el que aumentó (gráficas 3-6).

adolescente VS Gestante

El grupo adolescente muestra disminución en todos los segmentos siendo significativa en los segmentos de 50-100, 100-150, 200-250, 250-300 micras (gráficas 2,3,5,6).

A los 21 días.

Testigo VS: C, a, G

El grupo campana exhibe disminución en todos los segmentos siendo significativa en el segmento de 100-150 micras (gráfica 9). El grupo adolescente presenta disminución significativa en los segmentos de 100-150, 150-200, 200-250, 250-300 micras, excepto en el primero en el que aumentó (gráficas 9-12). El grupo gestante muestra diferencias significativas en los segmentos de 100-150, 150-200, 200-250, 250-300 micras, excepto en el primero en el que aumentó (gráficas 9-12).

Campana VS: a, G

El grupo adolescente presenta disminución significativa en el segmento de 150-200 micras, excepto en el primero en el que aumentó (gráfica 10). El grupo gestante muestra disminución significativa en el segmento de 150-200 micras, excepto en el primero en el que aumentó (gráfica 10).

adolescente VS Gestante

No se encontraron diferencias significativas.

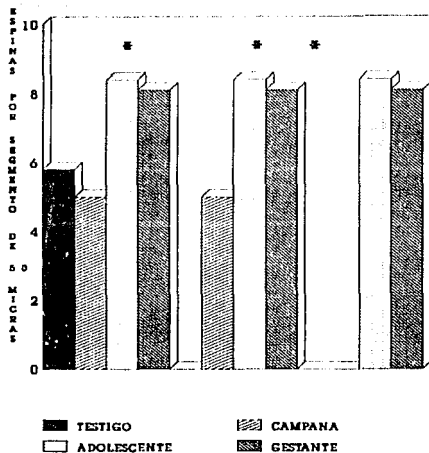
CUADRO 1

PROMEDIO DE ESPINAS A LO LARGO DE LA DENDRITA PRINCIPAL EN SEGMENTOS DE 50 MICRAS DE NEURONAS PIRAMIDALES DE LA V CAPA DE LA CORTEZA VISUAL DE CRÍAS DE RATAS A LOS 14 DÍAS DE EDAD.

DISTANCIA (MICRAS)	AIRE				TOLUENO				GRUPOS DE COMPARACION										
	TESTIGO (T)		TESTIGO (C)		ADOLESCENTE (a)		GESTANTE (G)		T	US	a	T	US	G	C	US	a	US	G
	N=45		N=35		N=39		N=33												
	X	E.S.	X	E.S.	X	E.S.	X	E.S.											
0-50	5.8	0.40	5.8	0.58	8.4	0.82	8.1	0.79	N.S. (-14)	" (+45)	N.S. (+40)	" (+60)	" (+62)	" (+5)	" (+30)	" (+125)	" (+20)	" (+22)	" (+38)
50-100	26.2	1.81	28.4	0.93	28.7	1.72	27.8	1.57	N.S. (+8)	" (-21)	N.S. (+3)	" (-27)	H.S. (+5)	" (+30)	" (+125)	" (+20)	" (+22)	" (+38)	
100-150	37.5	1.14	41.4	0.99	27.4	1.49	34.1	1.58	N.S. (11)	" (-27)	N.S. (-9)	" (-24)	" (-17)	" (+25)	" (+20)	" (+22)	" (+38)		
150-200	41.4	1.27	44.3	1.83	28.5	1.98	34.3	1.64	N.S. (+7)	" (-21)	" (-17)	" (-36)	" (-23)	" (+20)	" (+22)	" (+38)			
200-250	48.6	1.19	43.6	1.22	28.7	2.13	35.8	1.84	N.S. (+7)	" (-29)	N.S. (-14)	" (-24)	" (-20)	" (+22)	" (+38)				
250-300	38.1	1.19	42.3	1.25	25.3	1.74	34.8	1.82	N.S. (+11)	" (-34)	N.S. (-9)	" (-40)	" (-18)	" (+38)					

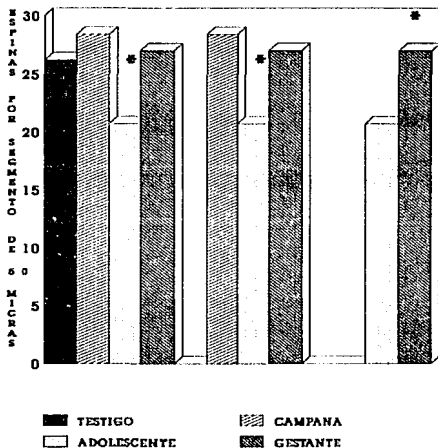
n.s. = estadísticamente no significativo
 " p < 0.05
 () = porcentaje de cambio

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO DE 50
UM EN ANIMALES DE 14 DIAS**



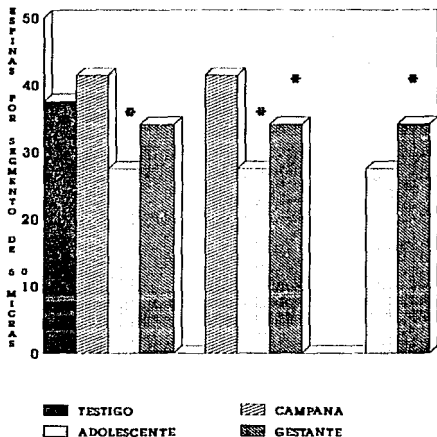
Gráfica.1. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque al grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

PROMEDIO DE ESPINAS EN EL SEGMENTO DE
100^{ta} EN ANIMALES DE 14 DÍAS



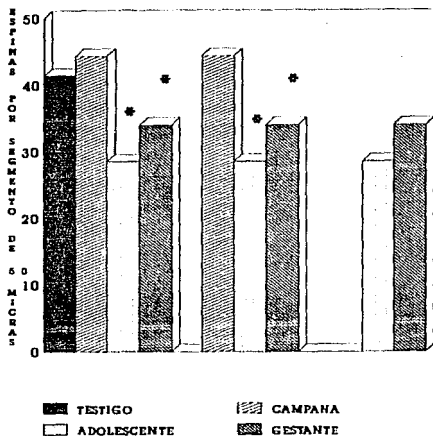
Gráfica.2. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque al grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 150 μ m DE ANIMALES DE 14 DIAS**



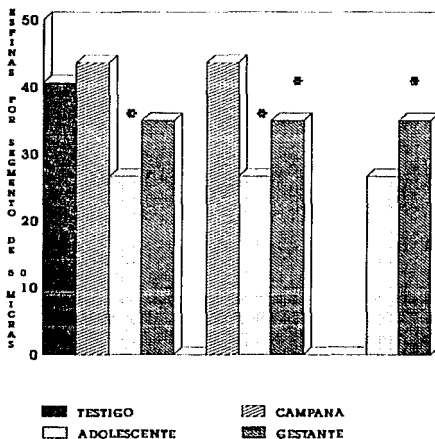
Gráfica.3. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque al grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 200 μ m EN ANIMALES DE 14 DIAS**



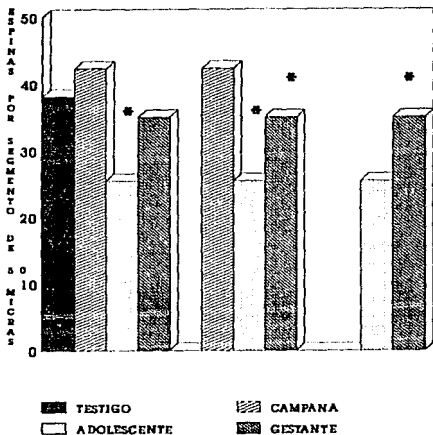
Gráfica.4. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque al grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 250 μm EN ANIMALES DE 14 DIAS



Gráfica.5. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque el grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 300 μ m EN ANIMALES DE 14 DIAS**



Gráfica-6. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque el grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

CUADRO 2

PROMEDIO DE ESPINAS A LO LARGO DE LA DENDRITA PRINCIPAL EN SEGMENTOS DE 50 MICRAS DE NEURONAS PIRAMIDALES DE LA V CAPA DE LA CORTEZA VISUAL DE CRÍAS DE RATAS WISTAR A LOS 21 DÍAS DE EDAD.

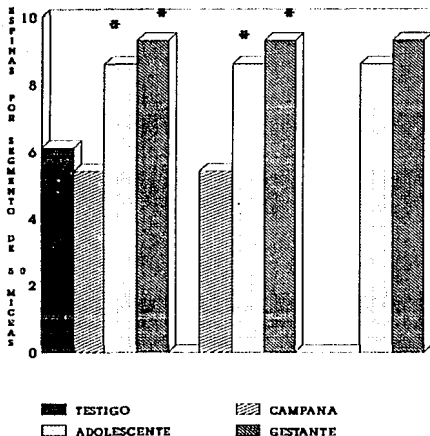
DISTANCIA (MICRAS)	AIRE				TOLUENO				GRUPOS DE COMPARACION											
	TESTIGO (T)		TESTIGO (C)		ADOLESCENTE		GESTANTE		T	U	S	C	T	U	S	G	C	U	S	G
	n=38		CAMPHAN n=36		n=44		n=33													
	X	E.S.	X	E.S.	X	E.S.	X	E.S.												
0-50	6.1	0.66	5.4	0.47	0.6	0.83	9.3	0.63	N.S. (-12)	# (+40)	# (+53)	# (+59)	# (+72)	# (+8)	N.S. (+0)					
50-100	39.3	2.18	37.6	1.29	38.3	2.27	39.7	1.66	N.S. (-4)	N.S. (-3)	N.S. (+1)	N.S. (+2)	N.S. (+6)	N.S. (+4)						
100-150	67.8	2.18	56.9	1.79	58.9	2.21	53.1	2.22	# (-16)	# (-25)	# (-22)	N.S. (-11)	N.S. (-7)	N.S. (+4)						
150-200	72.3	2.52	64.7	1.91	54.0	2.58	54.2	2.26	N.S. (-11)	# (-25)	# (-25)	# (-17)	# (-16)	N.S. (+0.5)						
200-250	68.8	2.46	61.8	1.97	52.2	2.67	53.8	2.28	N.S. (-11)	# (-24)	# (-23)	N.S. (+4)	N.S. (-13)	N.S. (+2)						
250-300	62.4	2.58	55.6	1.75	51.1	2.98	47.1	2.83	N.S. (-11)	# (-18)	# (-25)	N.S. (-8)	N.S. (-15.3)	N.S. (-8)						

P < 0.05

n.s. estadísticamente no significativo

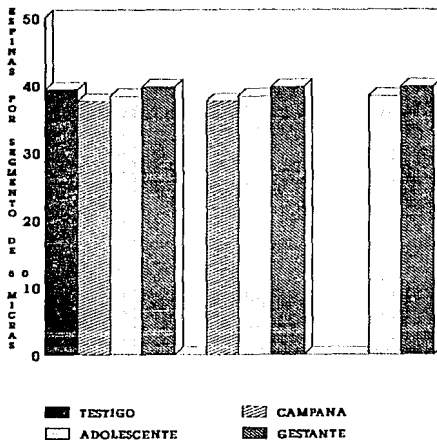
(): porcentaje de cambio

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 50 μ m EN ANIMALES DE 21 DIAS**



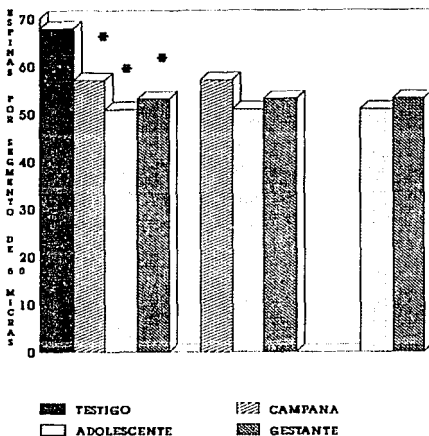
Gráfica.7. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque el grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 100 μ m EN ANIMALES DE 21 DIAS**



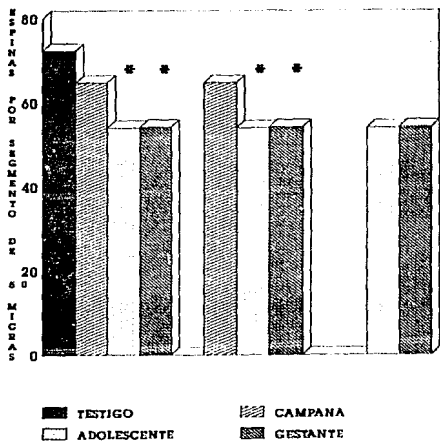
Gráfica.8. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque el grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 150 μ m EN ANIMALES DE 21 DIAS**



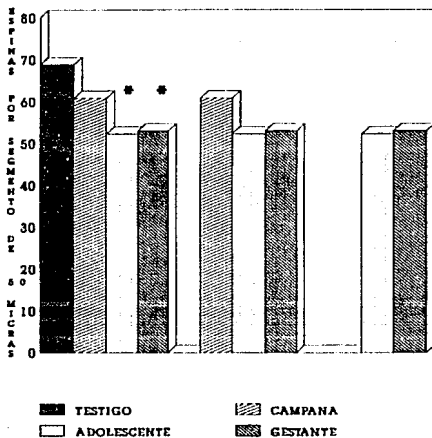
Gráfica.9. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campaña contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque el grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 200 μ m EN ANIMALES DE 21 DIAS**



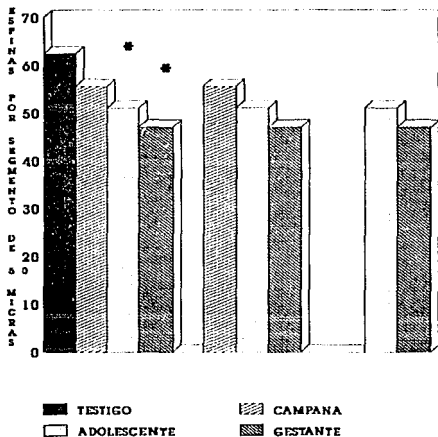
Gráfica.10. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque el grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 250 μ m EN ANIMALES DE 21 DIAS**



Gráfica.11. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque el grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

**ESPINAS DENDRITICAS EN EL SEGMENTO
DE 300 μ m EN ANIMALES DE 21 DIAS**



Gráfica.12. En el primer bloque se compara al grupo testigo con los demás grupos. En el segundo bloque el grupo campana contra el grupo adolescente y gestante. En el tercer bloque el grupo adolescente con el gestante. * $p < 0.05$

VI DISCUSION.

Los datos revelan que la inhalación de tolueno en la etapa juvenil o de embarazo afecta los procesos de maduración de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la V capa de la corteza visual de los descendientes, ya que estos aunque siguen el patrón de densidad de espinas dendríticas, y el indicado por otros investigadores Valverde (48), Miller (33), Parnavelas (34), Peters (40), quienes señalan que en las partes próximas al cuerpo neuronal el número de espinas es menor y conforme aumenta la distancia al cuerpo celular el número aumenta, en los que se nota mayor densidad en la parte media de la dendrita principal, y disminuye en las porciones más alejadas. En el presente trabajo, los resultados del número de espinas dendríticas de los grupos experimentales quedan por debajo de los grupos testigo, siendo más evidentes a los 14 días de edad.

Alteraciones similares han sido reportadas en la corteza cerebral, aunque en animales sometidos a desnutrición (45,7). La desnutrición protéica prenatal y postnatal produce a los 30 días de edad decremento en el número de espinas en las dendritas primarias y secundarias de las células multipolares, fusiformes y ovoides, en los núcleos Rafe dorsal y Locus coeruleus y en las células birramificadas, multipolares y bipolares de la corteza visual de la rata (6). En animales que fueron mantenidos de manera aislada (49). En animales que fueron sometidos a restricción motriz (44).

Durante la embriogénesis las aferencias monoaminérgicas inervan a la neocorteza y exhiben una organización pionera neural (15, 21, 35). El patrón de maduración dendrítica ocurre durante las tres primeras semanas de vida postnatal, éstas según el medio al cuál estén sujetas, pueden sufrir cambios, afectando a las neuronas que presentan un desarrollo temprano como es el caso de las neuronas piramidales de la V capa de la corteza visual, para retardar el proceso de maduración de los sistemas aferentes específicos que llegan a la neocorteza y de esta manera afectar la maduración de la arquitectura postsináptica por no presentarse la influencia inductora para que se lleve a cabo la sinápsis.

Al relacionar nuestros datos hay que tomar en cuenta un factor importante como es la unidad materno-fetal y considerarla extensa exposición fetal al tolueno por vía materna. El uso de drogas durante la gestación promueve efectos adversos en el desarrollo de los fetos. Es evidente que la placenta no actúa como una verdadera "barrera" protectora para los fetos contra la exposición al consumo de drogas por la madre durante la gestación. La intensidad del efecto de la droga en los fetos o los neonatos está en función del tiempo de exposición de los fetos a las drogas por vía materna y la acción farmacocinética de la droga en la madre y los fetos. La oveja preñada se ha tomado como modelo para estudios de farmacocinética. Hay tres tipos posibles de un modelo abierto de dos compartimentos que describen la disponibilidad de la droga en la madre y los fetos. El primer modelo sugiere que la droga puede ser eliminada solo por el compartimento materno basado en hallazgos recientes de que los fetos de muchas especies animales son deficientes en citocromo

P-450 eslabón de la cadena del transporte de electrones y relacionado con la actividad enzimática (37), por lo que se supone que los fetos no tienen capacidad significativa para eliminar las drogas. El segundo modelo, considera que la droga puede ser eliminada solamente por el compartimento fetal, ya que es altamente contradictorio de que una droga sea eliminada por los fetos y no por la madre, se descarta. El tercer modelo, propone que la droga puede ser eliminada de ambos compartimentos materno y fetal. Ya que estudios recientes, sin embargo, muestran que el hígado del feto humano (51,38), y el hígado del feto de ciertos primates (13), contienen citocromo P-450, demuestran la capacidad para metabolizar la droga por la mitad de la gestación. La rata, el ratón, el cerdo de guinea (20) y conejo (16,43), en todos se ha encontrado que contienen una capacidad muy baja para oxidar las drogas y otros compuestos externos hasta después del nacimiento. Dependiendo de la especie animal se va a escoger el modelo más apropiado para describir la disposición de la droga en la unidad-materno fetal. Aunque el tolueno, al igual que otros disolventes orgánicos actúan sobre el sistema nervioso central, hasta ahora no es posible responder, si las interacciones de sus efectos son directamente sobre las proteínas o sobre el medio fosfolipídico de las membranas neuronales que rodean a la proteína, que interactúan dinámicamente para facilitar los cambios conformacionales en estos componentes proteínicos de la membrana celular (46, 47). Se cree que en estas interacciones toman el lugar de los lípidos en la membrana (23), o alterna con las proteínas de la membrana

(17,18) y como el feto vive dentro de un medio controlado fisiologicamente por la madre, es de suponerse que las exposiciones al tolueno influyen sobre éste a través de la "barrera" placentaria alterando la maduración de las inervaciones monoaminérgicas y de ésta manera afectar el desarrollo de las neuronas. Por lo que una probable explicación de la disminución en el número de espinas dendríticas en las crías a los 14 y 21 días de edad, podría estar relacionado en una reducción de las inervaciones talamocorticales, así como inervaciones noradrenérgicas radiales que vienen del Locus coeruleus o a las inervaciones gabaérgicas las cuales inervan a la corteza en etapas tempranas del desarrollo.

La disminución en el número de espinas en las crías de madres que inhalaban tolueno en forma crónica durante la adolescencia, puede ser debida al efecto acumulativo del solvente sobre las células del cuerpo de la madre en general que se manifieste a largo plazo y de esta manera afectar a los neonatos a los 14 y 21 días de edad cuando la madre quedó preñada al ponerse a cruzar después del periodo de inhalación.

Por otro lado las diferencias encontradas en los grupos testigo se debe a la variación de las condiciones experimentales ya que el grupo testigo de aire inhaló aire en un espacio reducido semejando las condiciones ambientales lo que sugiere que haya probablemente un efecto de hipoxia que se manifieste en una disminución en el número de espinas como lo indican los valores presentados en los cuadros.

Aunque en la literatura revisada no se encontraron trabajos sobre la estructura y maduración de la corteza

cerebral en descendientes de madres jóvenes y adultas que hayan sido expuestas a vapores de tolueno en forma crónica, sin embargo encontramos reportes de trabajos sobre otras estructuras orgánicas: como la exposición a tolueno a dosis bajas aumenta los niveles en la fosforilación en las proteínas de membrana en el cerebro anterior en la rata y especialmente en el estriado, así como reducciones en la velocidad de recambio de catecolaminas en el estriado de la rata (50). En el hipotálamo, dosis bajas de tolueno causa incrementos en los niveles de catecolaminas y velocidad de racambio, así como incrementos en los niveles de prolactina en el suero (1).

Como el tolueno es considerado como un agente teratogénico y carcinogénico, probablemente induzca cambios metabólicos, por lo que nuestros datos apoyan el hecho de que la intoxicación crónica con tolueno durante la etapa juvenil o el embarazo produce alteraciones en la descendencia. Y como se sabe, en la rata el desarrollo neuronal comienza en el periodo fetal, para terminar en periodos posteriores al nacimiento, los cuales se consideran etapas críticas para el cerebro ya que son etapas cuando crece y se desarrolla, por lo que, la aplicación de tolueno durante cualquiera de estas etapas del desarrollo del cerebro produce disminución de los parámetros citoarquitectónicos neuronales.

Consideramos necesario complementar este trabajo morfométrico con estudios bioquímicos, fisiológicos y conductuales, para lograr un mejor entendimiento de los cambios encontrados en nuestro trabajo.

VII CONCLUSIONES.

Efectos producidos por la inhalación de vapores de tolueno:

a). El tolueno administrado a los progenitores durante la adolescencia o la gestación produce disminución en el número de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la V capa de la corteza visual de las crías.

b). La densidad de espinas dendríticas del grupo de crías a los 14 días cuya madre inhaló vapores de tolueno durante su adolescencia fue significativamente menor que el grupo de crías cuya madre inhaló durante la gestación, indicando un posible retraso en el patrón de sinaptogénesis.

c). A los 21 días no se encontraron diferencias, por el incremento en el número de espinas en el grupo adolescente mostrando posiblemente una recuperación estructural.

d). Los vapores de tolueno no afectaron el tamaño y la posición de las neuronas de la V capa de la corteza visual.

VIII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- 1.-ANDERSSON, K., O.G. NILSEN., R. TOFTGARD., P. ENEROTH., J-A GUSTAFSSON., N. BATTISTINI. Y L. CALSA, 1983. Increased amine turnover in several hypothalamic noradrenaline terminal system and changes in GH, LH and prolactin secretion in the male rat by low concentrations of toluene. *Neurotoxicology*, 4:43-56.
- 2.-BALINSKY, B.I. Y B.C. FABIAN, 1983. Introducción a la embriología. Ed. Omega. Barcelona.
- 3.-CAJAL-AGUERAS, S.R., P. CONTAMINA., P. PARRA., L. MARTINEZ-MILLAN., J.A. DECARLOS. Y C. RAMO, 1985. The distribution of somatostatin-immunoreactive neurons in the visual cortex of adult rabbits and during postnatal development. *Brain Res*, 359:379-382.
- 4.-CASTILLA-SERNA, L., G.A GALVES., H.M.E. SANCHEZ Y C. REYES-VAZQUEZ. Chronic but not acute reduce Na⁺,K⁺ ATPase in rat brain. *Neurotoxicology*.(En prensa).
- 5.-CASTILLA-SERNA, L. R.A. RODRIGUEZ-PEREZ., C.F. OSORIO. Y J. CRAVIOTO. Effects of chronic toluene inhalation on avoidance conditioned behavior in rats. *Arch Med Inv*.(En prensa).
- 6.-CINTRA L. Y S. DIAZ-CINTRA, 1985. Efecto de la desnutrición proteica en los núcleos rafe dorsal, Locus coeruleus y en las células no piramidales de la corteza visual de la rata. *Rev Chil Nutr*, 13(2):76-82.
- 7.-CORDERO, M.E., G. DIAZ. Y J. ARAYA, 1976. Neocortex developmental during severe malnutrition in the rat. *Am J Clin Nutr*, 29:358-365.

8.-COSTERO, I. Y R. BARROSO-MOGUEL, 1978. Alteraciones microscópicas encontradas en el sistema nervioso central de gatos y ratas albinas relacionables con la intoxicación experimental por inhalación de solventes industriales (tolueno y tiner). Cuadernos Científicos CEMESAN (Méx.), 8:91-122.

9.-DAVISON, A.N. Y J. DOBBING, 1966. Myelination as a vulnerable period in brain development. Brit Med Bull, 22:40-44.

10.-DIAZ-CINTRA, S. Y N.A. ORTEGA, 1991. Histogénesis y morfogénesis en el sistema nervioso central. En: Coordinación de la Investigación Científica Universidad Nacional Autónoma de México Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas (Eds.): Ontogenia Neural. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, México, 129-146.

11.-DOBBING, J. Y J. SANDS, 1971. Vulnerability of developing brain. IX. The effect of nutritional growth retardation on the timing of the brain growth spurt. Biol Neonate, 19:363-378.

12.-DOBBING, J. Y J. SANDS, 1973. Quantitative growth and development of human brain. Arch Dis Child, 48:757-767.

13.-DVORCHIK, B.H., V.G. STENGER. Y S.L. QUANTROPANI, 1974. Fetal hepatic drug metabolism in the nonhuman primate, Macaca arctoides. Drug Metab Dispos, 2:539-544.

14.-FELDMAN, M.L. Y A. PETERS, 1978. The forms of non-pyramidal neurons in the visual cortex of the rat. J Comp Neur, 179:761-794.

15.-FELTEN, D.L., H. HALLMAN. Y G. JONSSON, 1982. Evidence for a neurotrophic role of noradrenaline neurons in the postnatal development of rat cerebral cortex. J Neurocy, 11:119-135.

16.-FOUTS, J.R. Y R.H. ADAMSON, 1959. Drug metabolism in the newborn rabbit. Science, 129:897-898.

17.-FRANKS, N.P. Y W.R. LIEB, 1985. Mapping of general anesthetic target sites provide a molecular basis for cutoff affects. Nature(Lond), 316:349-351.

18.-FRANKS, N.P. Y W.R. LIEB, 1987. Anesthetic on the mind. Nature(Lond.), 328:113-114.

19.-HANSSON, T., B-M. PETERSSON, P. ENERTH. Y J-A. GUSTAFSSON, 1985. Neonatal exposure to toluene: Effects on the development of liver microsomal cytochrome P-450 and serum hormone levels in the rat. Toxicology, 37:39-50.

20.-JONDORF, W.R., R.P. MAIKEL. Y B.B. BRODIE, 1959. Inability of newborn mice and guinea pigs to metabolize drugs. Biochem Pharmacol, 1:352-354.

21.-JONSSON, G., T. KASAMATSU, 1983. Maturation of monoamine neurotransmitters and receptors in cat occipital cortex during postnatal critical period. Exp Brain Res, 50:449-458.

22.-KYRKLUND, T., P. KJELLSTAND. Y K. HAGLID, 1987. Brain lipid change in rats exposed to xilene and toluene. Toxicology, 45:123-133.

23.-KORPELA, M. Y H. TAHTI, 1988. The effect of in vitro and in vivo toluene exposure on rat erythrocyte and synaptosome membrane integral enzymes. Pharmacol Toxicol, 63:30-32.

24.-KRIEG, W.J.S., 1946. Conections of the cerebral cortex. J Comp Neurol, 84:231-333.

25.-LORENTE de Nò, R., 1938. Architectonic and structure of the cerebral cortex. In J.F. Fulton (Ed.) Physiology of the nervous system. Oxford University Press. London, 291-329.

26.-LORENZANA -JIMENEZ, M., C. LABASTIDA, S. CAPELLA. Y G.A. MANGOS, 1984. Determinación de la composición de varias muestras de tiner por cromatografía en forma de vapor. VIII Congreso Nacional de Farmacología. Monterrey Nuevo Leon. México, pag. 82.

27.-MARIN-PADILLA, M., 1967. Number and distribution of the apical dendritic spines of the layer V pyramidal cells in man. J Comp Neurol, 131:475-490.

28.-MARIN-PADILLA, M., 1968. Cortical axo-spinodendritic synapses in man: A Golgi study. Brain Res, 8:190-196.

29.-MARQUEZ-OROZCO, M.C., 1991. Bases morfológicas y fisiológicas del desarrollo del sistema nervioso. Aspectos comparativos y mecanismos de regulación de la ontogenia neural. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas UNAM. México, 73-128.

30.-MAXWELL, C.W., 1979. The brain. Sci Am, 241(3):106-117.

31.-MILLER, M.W. Y B.A. VOGGT, 1984. Direct connections of rat visual cortex with sensory, and association cortices. J Comp Neurol, 196:184-292.

32.-MILLER, M.W., 1985. Cogeneration of retrogradely labeled corticocortical projections and GBA immunoreactive local circuit neurons in cerebral cortex. Dev Brain Res, 19:187-192.

33.-MILLER, M., 1981a. Maturation of rat visual cortex. I. A quantitative study of Golgi-impregnated pyramidal neurons. J Neurocytol, 10:859-878.

34.-PARNAVELAS, J.G., A.R. LIEBERMAN, K.E. WEBSTER, 1977. Organization of neurons in the visual cortex, area 17, of the rat. *J Anat*, 124:305-319.

35.-PARNAVELAS, J.G., H.C. MOISES. Y S.G. SPECIALE, 1985. The monoaminergic innervation of the rat visual cortex. *Proc R Soc Lond B*, 193:319-329, 1985.

36.-PAXINOS, G. Y G.H. WATSON, 1982. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press. Sydney.

37.-PELKONEN, O., 1980. Biotransformation of xenobiotic in the fetus. *Pharmacol Ther*, 10:261-81.

38.-PELKONEN, O. Y N.T. KARAKI, 1974. Drug metabolism in human fetal tissues. *Life Sci*, 13:1163-1180.

39.-PETERS, A., 1981. Neuronal organization in rat visual cortex. In R.J. Harrison y R.L. Holmes (Eds.), *Progress in Anatomy*, Cambridge Univ Press, 95-119.

40.-PETERS, A., D.A. KARA, 1985a. The neuronal composition of area 17 of rat visual cortex. I. The pyramidal cell. *J Comp Neurol*, 194:198-241.

41.-PETERS, A. Y R. KAISERMAN-ABRAMOF, 1970. The small pyramidal neurons of the rat cerebral cortex. The perikarion, dendrites and spines. *Am J Anat*, 127:319-356.

42.-PETERS, A., C.C. PROSKAUER. Y C.E. RIBAK, 1982. Chandelier cells in rat visual cortex. *J Comp Neurol*, 196:397-416.

43.-RANE, A., M. BERGGREN., S. YAFFE. Y J.L. ERICSSON, 1973. Oxidative drug metabolism in the perinatal rabbit liver and placenta. A biochemical and morphologic study. *Xenobiotica*, 3:37-48.

44.-RUIZ-MARCOS, A., J. SALAS. Y R. ALVAREZ, 1979. Effects on specific and non-specific stimuli on the visual and motor cortex of the rat. Brain Res, 170:61-69.

45.-SALAS, M., S. DIAZ. Y A. NIETO, 1974. Effect of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. Brain Res, 73:139-144.

46.-TRUDELL, J.R., D.G. PAYAN, H.J. CHIN. Y E.N. COHEN, 1975. The antagonistic effect of inhalation anesthetic and high pressure on the phase diagram of mixed dipalmitoyl-dimyristoylphosphatidylcholine bilayer. Proc Nat Acad Sci USA, 72:210-21-213.

47.-UEDA, I. Y H. KAMAYA, 1984. Molecular mechanism of anesthesia. Anesth Analg, 63:929-945.

48.-VALVERDE, F., 1967. Apical dendritic spines of the visual cortex and light deprivation in the mouse. Exp Brain Res, 3:337-352.

49.-VOLKMAR, F.R Y W.T. GREENOUGH, 1972. Rearing complexity affects branching of dendrites in the visual cortex of the rat. Science, 30:1445-1447.

50.-VON EULER, G., K. FUXE., T. HANSSON., F. BENEFENATI. Y J-A. GUSTAFSSON, 1987. Effects of subacute toluene exposure on protein phosphorylation levels in rat frontoparietal and striatal membranes. Acta Physiol Scand, 131:113-118.

51.-YAFFE, S.J., A. RANE., F. SJOQUIST., L. BOREUS. Y S. ORRENIUS, 1970. The presence of a monooxygenase system in human fetal liver microsomes. Life Sci, 9:1189-1200.