

01965



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

2
207

EL OZONO PRODUCE ALTERACIONES
FUNCIONALES EN LA VIA VISUAL
DE LA RATA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN PSICOBIOLOGIA

P R E S E N T A :
VERONICA CUSTODIO RAMIREZ

Director de Tesis: Dr. Carlos Paz Tres

Jurado: Dr. Cerafín Mercado Domenech
Dr. Miguel Angel Guevara Pérez
Mtro. Alfonso Salgado Benítez
Mtra. Consuelo Arce Ortiz



MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA 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 esta 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.

AGRADECIMIENTOS

A los miembros del jurado por sus comentarios y sugerencias, al enriquecimiento de este trabajo.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para los estudios de maestría.

A la Facultad de Psicología, UNAM.

Al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez", donde se realizó el presente trabajo.

Al Mtro. Jorge Julian Palacios Venegas.

Al Dr. Carlos Paz Tres

Al Biologo Francisco Gutiérrez Baeza, por su ayuda Técnica.

DEDICATORIAS

CON AMOR A SERGIO

A MIS PADRES:

GUILLERMO CUSTODIO Y ALEJANDRA RAMIREZ

A MIS HERMANOS:

RENE, MEMO, ALE, ADRIANA, HERLINDA Y ERNESTE

A MIS CUÑADOS:

PATY, JUANITA, ROCIO, NORMA Y PEPE

A MIS SOBRINOS:

**CITLA, MEMITO, TONA, ZELTZIN, INVAN, DANY,
JOSE LUIS Y OLIVIA**

A LOS AMIGOS: SANDRA, NOHEMI, SOCORRO, PATY

HECTOR ARGUETA, SALVADOR Y CARLOS

**CON RESPETO A DOÑA AMPARO
A LOS AMIGOS DEL INSTITUTO DE NEUROLOGIA**

INDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCION	2
2. GENERALISADES SOBRE ANATOMIA Y FISIOLOGIA DE LA VIA VISUAL	5
3. CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS POTENCIALES EVOCADOS	12
3.1 TEORIAS SOBRE LOS GENERADORES DE LOS COMPONENTES DE UN POTENCIAL EVOCADO VISUAL.....	13
3.2 TECNICA PARA OBTENCION DE POTENCIALES EVOCADOS	14
4. POTENCIALES EVOCADOS VISUALES	19
4.1.1 TECNICA DE REGISTRO	19
4.1.2 APLICACIONES CLINICAS DE LOS POTENCIALES EVOCADOS VISUALES	19
4.2.0 ONDA P300 (P3) Y VARIACION CONTINGENTE NEGATIVA (VCN)	22

5. OZONO	24
5.1.0 CONTAMINACION ATMOSFERICA POR OZONO	25
5.1.1 EFECTOS TOXICOS DEL OZONO	26
5.1.2 ALTERACIONES FUNCIONALES RESPIRATORIAS	28
5.2.0 EFECTOS DEL OZONO EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	29
5.3.0 RADICALES LIBRES EN EL METABOLISMO Y PATOLOGIA EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	31
5.3.1 METABOLISMO DE RADICALES LIBRES EN EL CEREBRO	32
5.3.1 OXIDANTES	32
5.3.2 ANTIOXIDANTES	32
5.3.3 DAÑO OXIDANTE	33
6. HIPOTESIS	35
7. OBJETIVOS	35
8. MATERIAL Y METODOS	36

8.1.0 SUJETOS	36
8.2.0 CIRUGIA	36
8.3.0 REGISTRO ELECTROGRAFICO	37
8.4.0 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	38
8.5.0 ANALISIS HISTOLOGICO	41
8.6.0 ANALISIS ESTADISTICO	41
9. RESULTADOS	42
10. DISCUSION	53
11. CONCLUSIONES	58
12. REFERENCIAS	60
13. ABREVIATURAS UTILIZADAS	70

RESUMEN

Los efectos que el ozono (O_3) tiene sobre los organismos han sido principalmente estudiados a nivel de las vías respiratorias, sin embargo existen reportes en los que se indica que dicho gas produce alteraciones en la sangre y el Sistema Nervioso Central (SNC). El objetivo de este trabajo es profundizar en los efectos que el O_3 tiene sobre SNC, estudiando la vía visual a través de los Potenciales Evocados. Para cumplir con este objetivo se utilizaron ratas a las cuales se les implantaron electrodos bipolares en la Corteza Visual (CV) y el Cuerpo Geniculado Lateral (CG). Una vez recuperadas del procedimiento quirúrgico, se colocaron en cámaras sonoamortiguadas para el registro electrográfico y estimulación, la cual consistió en la aplicación de un grupo de 150 destellos luminosos con un intervalo de 30 segundos, administrado cada media hora durante cuatro horas. Los potenciales evocados en la CV y en el CG fueron capturados por una computadora que estaba provista de programas para la captura y análisis de señales. El primer registro fue tomado en condiciones control (ambiente libre de contaminantes) y posteriormente a cada animal se le administró 0.75, 1.5 y 3.0 ppm de O_3 , con un intervalo de 15 días entre cada concentración. Se examinó las variaciones en amplitud y latencias de los componentes P1, N1 y P2 tanto en CG como en CV. Los resultados obtenidos se analizaron por medio de un ANOVA y una prueba de Tukey. Las latencias presentaron una tendencia a aumentar en cada uno de los tres componentes en ambas estructuras, este incremento dependió de la concentración de ozono. Con 3.0 ppm de O_3 se encontraron cambios significativos desde la primera hora de exposición en los componentes P1, N1 y P2, tanto en la CV como en el CG; mientras que con 1.5 ppm de O_3 el componente N1 en la CV presentó cambios significativos desde la primera hora de exposición. Estos resultados indican que el ozono tiene efectos en los procesos de conducción y excitabilidad sináptica de la vía visual en condiciones de 1.5 y 3.0 ppm de O_3 con solamente una hora de exposición.

1. INTRODUCCION

Un Potencial Evocado (PE) es una variación de voltaje producida en un área específica del Sistema Nervioso Central (SNC) provocada por un estímulo sensorial. Los potenciales evocados sensoriales son un reflejo directo de la respuesta neuronal ante un estímulo y en el caso de los potenciales evocados visuales una disfunción en la vía visual puede provocar una disminución en la capacidad para transformar la información visual en una respuesta motora, de ahí la importancia de medir los tiempos de reacción ante un estímulo para analizar la capacidad de sobrevivencia de un individuo o de la comunidad, además de que la vía visual puede ser utilizada para cuantificar la susceptibilidad de ésta para ser alterada por cambios en el medio ambiente.

Recientemente se ha manifestado la preocupación de los efectos nocivos de los contaminantes ambientales. Uno de los principales tóxicos es el O_3 . Se ha reportado que este contaminante es capaz de producir daño en el epitelio nasal, en el sistema bronquial-alveolar y en el endotelio pulmonar (Gross y cols. 1991; Pinkerton y cols. 1993). Se ha propuesto que la toxicidad del O_3 en el sistema respiratorio se debe principalmente a la producción de radicales libres, capaces de producir peroxidación lipídica; ésta a su vez produce daño tisular, iniciado por la acción de los superóxidos y radicales hidroxilo. El efecto nocivo de los radicales libres también han sido referidos en las células sanguíneas y el plasma (Goldstein y cols. 1968; Clark y cols 1978; Moore y cols. 1980), sugiriendo que el efecto tóxico del O_3 a través de la sobreproducción de radicales libres afecta a órganos distantes del aparato respiratorio. El Sistema Nervioso Central es especialmente susceptible a los radicales libres debido a diferentes factores, entre ellos, a que posee un alto contenido de ácidos grasos insaturados, a que las células nerviosas utilizan un alto consumo de oxígeno, a un bajo nivel de sustancias amortiguadoras tales como el glutatión y ciertas enzimas antioxidantes, así como a la misma producción endógena de radicales libres que se generan durante el metabolismo celular durante el catabolismo de la dopamina (Mizumo y Ohta, 1986; Evans, 1993). El radical superóxido es el principal radical libre involucrado en

el daño cerebral. Este puede ser liberado al fluido cerebral extracelular, como resultado de la producción de peróxido de hidrógeno en presencia de iones de hierro o radicales hidróxilo. Los radicales superóxido son compuestos de alta reactividad debido a que se pueden difundir desde el sitio de formación a otros lugares (Halliwell y Gutteridge, 1984).

Se sabe que en solución acuosa, el ozono se descompone en peróxido de hidrógeno, óxidos y radicales hidróxilo. Se cree que algunos de los radicales libres inducidos por el ozono, en los sistemas biológicos, son derivados de la descomposición oxidativa de ácidos grasos poli-insaturados, de la oxidación de grupos sulfidrilos y aminoácidos ligados a enzimas, proteínas y péptidos, razón por la cual las membranas celulares son blancos sensibles al O_3 (Victorin, 1992). En las reacciones del ozono con los ácidos grasos también se forman epóxidos y aldehídos tales como el malonaldehído. Es posible que estos productos de reacción secundaria sean la causa del daño a varios sitios extrapulmonares (Mustafa, 1990), tales como las encontradas en la sangre (Goldstein y cols., 1968), hígado (Zindenberg-Cherr y cols. 1991) y encéfalo (Trams y cols., 1972; Paz y Bazan-Perkins 1992).

Entre las manifestaciones conductuales reportadas por los sujetos expuestos al O_3 se refieren síntomas de fatiga, letargia y dolor de cabeza (Hackney y cols., 1975; Hackney y cols., 1977; Lategola y cols., 1980). Experimentalmente se ha reportado disminución de la actividad motora en ratas expuestas entre 0.12 y 1.5 partes por millón (ppm) de O_3 durante 6 horas, observando que el efecto en la disminución de la actividad motora persiste más allá del final de la exposición, al menos durante las 3 horas subsecuentes a la exposición a O_3 (Tepper y cols., 1982; Tepper y cols., 1985), provocando disminución en la capacidad de respuesta en las pruebas de condicionamiento operante (Weiss y cols., 1981). El efecto del O_3 sobre el SNC también se ha estudiado a nivel de la vía visual, a través de las alteraciones en las latencias y morfología de los Potenciales Evocados Visuales (PEV) (Xintaras y cols., 1966). Así, mediante exposiciones de 0.5 ppm de O_3 durante una hora, se encontró un retardo de la respuesta inducida por la estimulación fótica tanto en la Corteza Visual como en el colículo superior de la rata, así como una disminución en la

amplitud e incremento en la latencia de los potenciales evocados visuales. Bokina y cols. (1976) reportaron que la exposición a 0.02 ppm de O₃ en conejos, provoca retardo y disminución en la amplitud del componente negativo en la CV, en la respuesta a la estimulación fótica. Estos autores refieren que durante los primeros 10 seg de exposición a O₃ se presenta una reacción inespecífica de orientación y exploración, así como respiración agitada. Durante este periodo también se presenta una reacción específica caracterizada por disminución de la amplitud en el Electroencefalograma (EEG) registrado en el núcleo amigdaloides cortical y en el bulbo olfatorio. Estas alteraciones son transitorias, volviendo a su estado inicial a los pocos segundos. Cuando la exposición se prolongó por más de 20 minutos se observó un incremento en la amplitud del EEG.

En un estudio en el que se relacionaron los parámetros de los potenciales evocados visuales y los resultados de un test para evaluar la velocidad de reacción motora a la estimulación visual, los pacientes con intoxicación crónica con disulfuro de carbono (CS₂) mostraron una correlación entre la disfunción visual y una disminución en la capacidad para transformar la información visual en una respuesta motora (Sikora y cols., 1990). Este efecto también ha sido comprobado en animales. Así, la administración intraperitoneal de 200 mg Kg/día de CS₂ durante 30 días a ratas Long-Evans, provoca retardo en la aparición de los componentes tempranos de los potenciales evocados registrados 1, 2, 6 y 24 hr después de la última dosis. En estos estudios se encuentra que la exposición a CS₂ también provoca una disminución en la amplitud de los componentes N30 y N160, hasta 24 horas después de la última dosis. Cambios en los PE fueron correlacionados temporalmente con alteraciones en cada pico de éstos. La exposición repetida a bajas concentraciones de CS₂ afecta más a los PE cuando se administra durante periodos largos (crónicos), que en la exposición aguda. Similarmente, se han reportado severas alteraciones neurológicas después de la exposición repetida a CS₂ en humanos (Herr y cols., 1992). Estos resultados nos señalan la importancia de medir la velocidad de respuesta ante un estímulo para analizar la capacidad de sobrevivencia en los organismos y cuantificar la susceptibilidad para ser alterado por cambios en el medio ambiente.

2. GENERALIDADES SOBRE ANATOMIA Y FISILOGIA DE LA VIA VISUAL

La primera etapa del procesamiento de información visual se produce en la retina, constituida por los conos y los bastones, estos receptores realizan sinapsis con las células bipolares, las cuales se conectan a su vez con las células ganglionares, cuyos axones dan origen al nervio óptico. Entre los elementos receptores y las células ganglionares se produce una convergencia de la entrada sensorial; el ojo humano contiene aproximadamente 125 millones de bastones y conos pero sólo un millón de células ganglionares. Las células horizontales y las células amacrinas de la retina completan la población de células nerviosas; estas células son especialmente relevantes en las interacciones inhibitorias del interior de la retina. El gran número de células retinianas permite que una parte del procesamiento de la información se produzca en este nivel del sistema visual; las señales resultantes convergen en las células ganglionares.

Los estudios sobre la sensibilidad humana a la luz revelan la existencia de dos sistemas funcionales distintos que corresponden a dos poblaciones diferentes de receptores en la retina. El sistema constituido por los bastones trabaja con niveles bajos de intensidad luminosa; este sistema se denomina sistema escotópico (de la palabra griega oscuridad), ya que estos receptores son capaces de ser estimulados con estímulos de baja intensidad. El otro sistema opera con mayores niveles de luminosidad y es sensible al color; este sistema implica a los conos y se denomina sistema fotópico (de la palabra griega luz). Las acciones de estos dos sistemas, con sus distintas sensibilidades, capacitan a nuestros ojos para operar en un amplio rango de intensidades.

La sensibilidad de ambos tipos de receptores visuales está determinada por su inusual estructura y bioquímica. Una parte de la estructura de los conos y los bastones, forma una serie de invaginaciones de la membrana externa, la cual aparece como una pila de láminas. Cada uno de estos pliegues recibe el nombre de disco. El apilamiento de discos incrementa la probabilidad de capturar cuantos de luz. La luz es reflejada en muchas direcciones por

la superficie del globo ocular, el cristalino y el fluido interno del ojo. A causa de la dispersión de la luz, sólo una pequeña cantidad alcanza realmente la superficie de la retina.

Los cuantos de luz que llegan a los discos son capturados por fotopigmentos especiales. El pigmento de los bastones se denomina rodopsina, esta molécula proteica cambia de forma cuando se expone a la luz. La investigación reciente muestra que la forma de la rodopsina alterada por la luz posee actividad enzimática e inicia una cascada de fenómenos que permiten que cada cuanto de luz produzca el cierre de cientos de canales de sodio de la membrana del fotorreceptor y bloquee la entrada de estos iones (Schnapf y Baylor, 1987). El cierre de los canales crea un potencial generador que es la señal eléctrica inicial de activación de la vía visual. El tamaño del potencial receptor se relaciona con la intensidad del estímulo. La sensibilidad del bastón está determinada parcialmente por la exposición anterior a la luz; de este modo, una intensidad de estimulación determinada producirá un potencial receptor mayor si es precedida por estímulos más pequeños que si lo es por estímulos mayores.

Los resultados del procesamiento visual en la retina convergen en las células ganglionares; sus axones forman el nervio óptico, el cual transporta la información visual al encéfalo. En los vertebrados, algunos axones del nervio óptico cruzan al hemisferio cerebral opuesto. Los animales con ojos localizados lateralmente presentan poca visión binocular, ya que existe una proporción mayor de axones que cruzan en el quiasma óptico. En los humanos los axones del nervio óptico se dividen en dos grupos en el quiasma óptico. En este punto los axones de la mitad de la retina más próxima a nariz (retina nasal) atraviesan hacia el lado opuesto del encéfalo. La mitad de retina de la parte lateral de la cabeza, la retina temporal, proyecta sus axones a su mismo lado de la cabeza. La proporción de tracto óptico que cruza varía notablemente entre especies; en la rata es del 90% y alrededor del 50% en los primates.

El nervio óptico es el término que se aplica a los axones de las células ganglionares de la retina después de abandonar el quiasma óptico. La mayoría de los axones del tracto óptico terminan en el núcleo geniculado lateral, que forma parte del tálamo. Algunos axones

dejan el tracto óptico para terminar en el colículo superior del mesencéfalo. Haces relativamente pequeños de axones van a otros núcleos del diencefalo, los cuales se relacionan con el control de los ciclos diarios de conducta (ritmos circadianos).

En las interacciones sinápticas producidas en el núcleo geniculado lateral pueden estar involucradas influencias derivadas de otras regiones encefálicas (por ejemplo de la formación reticular). Los axones de las células postsinápticas del núcleo geniculado lateral constituyen las radiaciones ópticas, que terminan en las áreas visuales primarias de la corteza occipital. Además de la corteza visual primaria, las zonas circundantes desempeñan funciones principalmente de integración visual. A nivel cortical convergen la entrada sensorial de los dos ojos haciendo posible los efectos binoculares.

El núcleo geniculado de los primates tiene seis capas. Las cuatro capas dorsales se denominan parvocelulares debido a que las células son pequeñas. Las dos capas ventrales se denominan magnocelulares debido a que sus células son grandes. Es importante destacar que las células de las capas magnocelulares no muestran respuestas de longitud de onda espectralmente oponentes, es decir no discriminan el color. Mientras que las células de las capas parvocelulares se caracterizan por poseer campos receptivos pequeños, pero son capaces de discriminar colores.

Actualmente se emplean los nombres de las principales divisiones del núcleo geniculado lateral para designar las dos subdivisiones principales de las vías visuales: el sistema parvocelular parece ser el responsable principalmente del análisis del color y de la forma, así como del reconocimiento de objetos; el sistema magnocelular parece encargarse fundamentalmente de la percepción de la profundidad y del movimiento (Livingstone y Hubel, 1984). Desde el núcleo geniculado, las diferentes divisiones se proyectan a distintas capas y áreas de la corteza cerebral. En el área visual primaria, las proyecciones parvocelular y magnocelular se separan aunque siguen entremezcladas.

Estudios recientes han revelado diversas áreas corticales para cada modalidad sensorial (auditiva, somatosensorial y visual), y la mayoría de estas áreas constituyen un mapa topográficamente ordenado de la superficie receptora (Woolsey, 1981).

Cada región sensorial de la corteza recibe aferencias de una o más regiones del tálamo. Algunas divisiones del tálamo se proyectan a una sola región cortical y otras se proyectan a más de una región. Posteriormente existe divergencia de la información sensorial. Las regiones sensoriales de la corteza envían axones de vuelta al tálamo, generalmente a sus mismas fuentes de entradas, pero a veces también a otras divisiones talámicas.

La corteza visual primaria posee representaciones separadas para al menos cuatro dimensiones del estímulo visual. Globalmente, la corteza visual primaria representa zonas del campo visual; tales representaciones son mayores y más definidas cuando se refieren a la región central que cuando representan la periferia. Sin embargo, dentro de una zona concreta correspondiente a una determinada parte del campo visual, existen bandas o franjas separadas de células que representan el campo visual del ojo ipsilateral y del contralateral. En el interior de estas bandas hay columnas en las que todos los campos receptivos de la neurona son selectivos para estímulos con la misma orientación angular en el interior del campo visual. Es decir, en una columna todas las células están ordenadas para recibir estímulos verticales (a cero grados de orientación); en una columna adyacente, todas las células responden mejor a estímulos desviados 10 grados de la vertical; en otra columna para 20 grados, y así sucesivamente.

El primer aspecto que se descubrió mediante el registro electrofisiológico de los campos receptivos de neuronas individuales fue la existencia de bandas alargadas de células que respondían preferentemente a la estimulación de un ojo. Cada banda era de 350-500 micrómetros de ancho. Aunque estas bandas constan de miles de columnas corticales individuales, se les dio el nombre de Columnas de Dominancia Ocular. La cual es especialmente clara en la capa IV de la corteza visual primaria, donde cualquier célula responde a un solo ojo; por encima y por debajo de la capa IV, la mayoría de las células responden a la estimulación de ambos ojos (Gouras, 1985).

En el interior de las bandas de dominancia ocular se encuentran columnas de 30-100 μ m de diámetro. El registro con microelectrodos ha mostrado que todas las células de cada

columna responden a estímulos de una determinada orientación o posición dentro del campo visual. Al desplazar el electrodo de registro de una columna a la siguiente, el eje de orientación al que responden varía alrededor de 10 grados.

Las regiones en forma de estaca de la corteza interrumpen la progresión de las columnas de orientación. Las células de estas estacas o manchas no responden a la orientación, sino que muestran preferencias de color. Son células de doble oponente (por ejemplo responden con excitación al rojo y con inhibición al verde; una neurona rojo positivo-verde negativo) y sus campos receptivos son redondos, sin ejes de orientación. Las estacas corticales tienen unos 150-200 μm de diámetro y discurren a lo largo de los centros de las columnas de dominancia ocular; son más densas y mayores en las regiones de la corteza que representan el centro del campo receptivo y menores y más espaciadas a medida que se extienden por las regiones que representan la periferia. Las técnicas químicas sugieren que las neuronas de las estacas están preparadas para una tasa de actividad más alta que las células entre estacas. Las estacas pueden estar de manifiesto anatómicamente empleando un tinte para una enzima (citocromo oxidasa) característico de la mitocondria y cuya actividad varía con el nivel de actividad celular de las neuronas. Además, las enzimas que participan en el metabolismo de la acetilcolina y del GABA se encuentran abundantemente en las estacas.

Los circuitos que extraen la información del color y contrastan el brillo de las partes adyacentes del campo visual están localizados en la retina. De este modo gran parte del procesamiento neural tiene lugar en la retina, donde hay cientos de millones de células nerviosas. Los resultados de este procesamiento son transportados a los centros superiores mediante axones de cada nervio óptico. Las células ganglionares retinianas son de este modo neuronas de proyección, y las otras neuronas retinianas son neuronas de circuito local, según la distinción entre neuronas de proyección y de circuito local.

Se han efectuado registros de células ganglionares en monos, que muestran una discriminación del color idéntica a la de los seres humanos con visión normal para el color. Se ha observado que la mayoría de las células ganglionares y las células de las capas

dorsales del núcleo geniculado lateral son sensibles espectralmente; disparan ante algunas longitudes de onda y se inhiben ante otras. Las células del núcleo geniculado lateral muestran la misma respuesta característica de las células ganglionares.

En la corteza la información del color parece emplearse para diferentes tipos de procesamiento de la información. Algunas células corticales son espectralmente oponentes y pueden incluso acentuar o mejorar las diferencias de color. Estas células pueden contribuir a la percepción del color. Se ha informado que algunas regiones visuales corticales, especialmente la V4, son particularmente ricas en células sensibles al color e incluso muestran efectos perceptuales de contexto cromático. La percepción del color en humanos parece requerir de la corteza, puesto que algunas lesiones corticales eliminan la percepción del color. La visión del color es rara entre mamíferos. Está muy poco desarrollada en roedores (ratas) y en carnívoros (como en perros y gatos). Está moderadamente desarrollada en primos (como *Tupaia*) y muy evolucionada en monos y póngidos. Al parecer la visión al color ha evolucionado independientemente en varias líneas, abarcando algunos moluscos, algunos insectos, algunos peces y algunos reptiles. Sin embargo, considerando que los conos son los receptores de la visión en color, los animales como la rata, cuyas retinas sólo tienen bastones, son ciegos al color.

Los campos receptivos de las células del sistema visual difieren en cada nivel del sistema. Los campos receptivos de las células ganglionares retinianas son concéntricos y de dos tipos básicos: con un centro excitatorio y un anillo inhibitorio alrededor (centro on y periferia of) o bien con la organización opuesta, con un centro of y una periferia on. El centro y la periferia son siempre antagónicos y uno tiende a anular la actividad del otro. En el gato existen tres tipos principales de células ganglionares (Sherman, 1985): aproximadamente las tres cuartas partes de las células ganglionares muestran actividad sostenida durante tanto tiempo como dure la estimulación; estos receptores tónicos se han denominado células X. Para alrededor del 5% de las células la actividad es transitoria, comenzando con intensidad pero disminuyendo rápidamente; estos receptores fásicos se denominan células Y. Existen células W con respuestas lentas y algo variables. Las células

Y, X y W se proyectan por separado desde la retina hasta los centros visuales más altos y sirven para diferentes funciones.

La información de las células W sirve para controlar los movimientos de la cabeza y el ojo en respuesta a la estimulación visual. Las células X poseen campos receptivos pequeños y sus informaciones, los análisis de alta resolución de la forma visual, se procesan detalladamente. Por el contrario, las células Y poseen grandes campos receptivos y sus informaciones se emplean para análisis básicos de la forma y el movimiento; probablemente ayudan al gato a moverse a través del espacio visual y a dirigir sus ojos y su atención a los objetos que se mueven dentro de él. Aunque existen relativamente pocas células Y en la retina, cada una establece contacto con muchas células geniculadas, de modo que la vía Y incluye un tercio de las células del núcleo geniculado lateral del gato. desde aquí, la vía de células Y va a las áreas visuales 17 y también 18 y 19, así como a otras áreas de la corteza.

Las diferencias en la función espacial de los sistemas X e Y pueden tener relación con los efectos de la privación de estímulos durante el período crítico de desarrollo visual.

3. CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS POTENCIALES EVOCADOS

Al igual que en electroencefalografía, el registro de los potenciales evocados es un gráfico del voltaje en función del tiempo. Las ondas obtenidas, y sus respectivas latencias, proveen datos sobre la capacidad funcional del sistema nervioso. De esta manera, los potenciales evocados pueden ser utilizados como un índice objetivo y cuantitativo de la función sensitiva.

Los distintos componentes de los potenciales evocados tienen una determinada latencia y un determinado voltaje. Por tanto, para que tengan aplicación clínica es necesario, primero, establecer estos valores normales y su relación con el tipo de estímulo. Así cuando se obtienen latencias o voltajes fuera de los límites normales pueden localizarse lesiones en un lugar determinado de la vía aferente estudiada, desde el receptor hasta la corteza.

Al hacerse la correlación entre las cualidades físicas del estímulo, la percepción sensorial y la latencia y voltaje de los potenciales previamente determinados en sujetos sanos, se puede comparar con sujetos después de un tratamiento o alguna condición de experimentación. Esto se determina con los potenciales evocados que se hallan entre 0 y 250 mseg de latencia, llamados *neurológicos*. Los potenciales evocados que se hallan en latencias de más de 250 mseg, llamados *perceptuales*, permiten evaluar la función cerebral, la relación cerebro-comportamiento, estado mental, interacción de drogas, etc. Estos potenciales sufren modificaciones no sólo con respecto a las variaciones de las cualidades físicas del estímulo, sino también en función a factores psicológicos. Las ondas de los potenciales evocados por la estimulación auditiva o visual varía en función al grado de incertidumbre que tiene el sujeto con respecto a la modalidad sensorial del estímulo. Además, si la modalidad sensorial de éste es o no correctamente anticipada, hace también variar a las ondas evocadas (Delamónica E).

3.1 TEORIAS SOBRE LOS GENERADORES DE LOS COMPONENTES DE UN POTENCIAL EVOCADO VISUAL

Teóricamente los componentes primarios que se presentan en los 50 milisegundos seguidos de un flash son principalmente afectados por excitación de fibras de la vía retino-geniculado. Los componentes secundarios son afectados por la excitación de las fibras de la vía retinogeniculado y por el estado conductual o nivel de conciencia.

— Respuesta primaria Retino-Geniculado

--- Sistema de respuesta secundaria y activación Retino- Geniculado

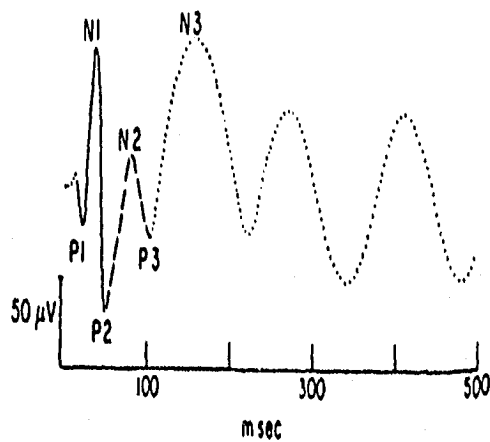


Figura 1. Modelo teórico del origen de los componentes del potencial evocado visual, registrado en corteza de la rata en estado de alerta.

Los mecanismos que producen las oscilaciones y su sincronización in vivo en el electroencefalogramase desconocen. Sin embargo, se han propuesto varios mecanismos para

explicar este fenómeno: Primero, el registro intracelular obtenido en preparaciones de rebanadas corticales ha revelado subpoblaciones de interneuronas inhibitorias y células piramidales, en las cuales la oscilación del potencial de membrana está en un rango de frecuencia de 10 a 50 Hz, en virtud de las propiedades intrínsecas de las membranas celulares. Dichas células pudieran activar a una población local en forma coordinada a la respuesta oscilatoria. Segundo, la respuesta oscilatoria cortical puede ser reflejo de la actividad rítmica aferente de orígenes tales como la retina y núcleo geniculado lateral; estructuras que se conoce exhiben variedad de grados de actividad oscilatoria. Tercero, la respuesta oscilatoria pudiera ser generada por redes corticales, células excitatorias que reciben una retroalimentación inhibitoria recurrente (Jagadeesh y col. 1992).

Se ha descrito que para el Potencial Evocado Cortical el componente P1 es generado por una salva de potenciales de acción provenientes del Cuerpo Geniculado Lateral; mientras que el componente N1 es generado por potenciales post-sinápticos excitatorios de la vía aferente, y el componente P2 y otros componentes posteriores, generados tanto por interacción local, como por interacción con centros subcorticales (Pérez-Cobo y cols., 1994).

Los componentes P2, N2 y P3 probablemente refleja los cambios eléctricos iniciados en la formación reticular y el sistema de proyección difusa talámica. La aparición de los componentes secundarios es probable dependan sobre la integración de conexiones anatómicas del colículo superior con el tallo cerebral y proyecciones difusas talámicas en la Figura 1 se muestra el modelo teórico propuesto por Creel y cols. (1974).

3.2 TECNICA PARA OBTENCION DE POTENCIALES EVOCADOS

Todo método utilizado en detectar señales inmersas en ruidos, se basa en el hecho de que la señal tendrá una relación de tiempo constante o conocida con el estímulo, mientras que no lo tendrá la actividad de fondo, llamada ruido.

La energía del medio externo es convertida en impulsos nerviosos al estimular los órganos sensoriales periféricos del sistema nervioso. Estos impulsos se codifican y son

transmitidos por las vías nerviosas a los diversos centros del cerebro. Estas señales específicas pueden ser adecuadamente registradas pese a su reducido voltaje y hallarse rodeadas de actividad eléctrica inespecífica, proveniente de las estructuras vecinas, mediante la colocación de electrodos sobre el cuero cabelludo o subcorticales y utilizando computadoras provistas de programas para promediar.

La técnica de obtención de los potenciales evocados consiste en una serie de pasos que se deben considerar: 1. el estímulo; 2. captación; 3. amplificación; 4. conversión analógica-digital; 5. promediación y 6. gráfico X-Y.

1.- Estímulo: Dependiendo de la modalidad a estudiar, el estímulo puede ser somatosensitivo, visual o auditivo. El estímulo debe ser perfectamente controlado y reproducible.

Los parámetros de control del estímulo son: a) intensidad, b) duración y c) frecuencia. Al modificar los parámetros de estimulación hay efecto de la variación de un potencial evocado normal.

2.- Captación: Al igual que en electroencefalografía, los potenciales evocados son captados a través del cuero cabelludo, en el caso de investigación con animales de laboratorio, los electrodos pueden ser colocados subcorticalmente a través de una cirugía de implantación, la ubicación de éstos varía de acuerdo con la modalidad sensorial a estudiar.

3.-Amplificación: La señal captada por los electrodos pasa al amplificador donde desempeña un papel importante la banda de paso a utilizar. Esto se debe a que la banda de paso permitirá obtener una óptima relación señal/ruido, previa a su promediación. Así, por ejemplo, en la banda de paso a utilizar para obtener un potencial evocado del tronco encefálico, los filtros deben ser 150-3,000 Hz, mientras que para obtener un potencial visual los mismos deben ser 5-100 Hz.

4.- Conversión analógica-digital: La actividad eléctrica proveniente del amplificador es convertida en una serie de valores digitales por el sistema de conversión analógica (continua)-digital (discretos) de la computadora. Así, la onda digital pasa a la memoria de la procesadora de datos, donde se suma a otras. Luego se hace la conversión digital-analógica, para su muestra en el osciloscopio o al grabador X-Y.

En la conversión analógica-digital se producen dos efectos: 1) efecto en la amplitud de las ondas, está dado por el voltaje en el orden de los microvolts, se mide desde el punto mínimo, al punto máximo de la onda, y 2) efecto en la frecuencia, se refiere al número de ondas que se presentan en un segundo (Hertz). El primero es designado como "resolución vertical" y el segundo como "resolución horizontal".

5.- Promediación de la señal: una vez definidos los parámetros anteriores, se obtienen diferentes segmentos del electroencefalograma con una duración tal que permita analizar ya sea los potenciales evocados neurológicos (0-250 mseg) o bien los potenciales evocados perceptuales (250-6 más mseg) a partir de la estimulación sensorial. El proceso consiste en la sumatoria de tiempos sucesivos de análisis y su promediación. De esta manera, el potencial que se evoca por el estímulo, por ser constante, se mantendrá sin variación; mientras que la actividad eléctrica espontánea del cerebro, por ser irregular, su promedio se aproximará paulatinamente al cero. La relación señal/ruido aumenta durante este proceso en razón de la raíz cuadrada del número de barridos promediados.

En suma, el proceso de promediación de la señal consiste en extraer el ruido de una señal, mediante sumatoria de repetidos tiempos de análisis que se hallan fijados en el tiempo con el estímulo. Esto se obtiene mediante la conversión analógica-digital previa, en la cual un determinado número de muestras sincrónicas con el estímulo son coleccionadas y agregadas a las colectadas por otras muestras de otros barridos. La onda registrada será determinada, a la vez por factores de resolución vertical y horizontal. Finalmente, el proceso de promediación de la señal incrementa a esta última por un factor igual a la raíz cuadrada

del número de barridos colectados. La cantidad de promediaciones requeridas se halla determinada por la relación señal/ruido.

En la figura 2, se muestra cuatro segmentos del EEG; después de ser promediados se evidencian los elementos constantes dando como resultado los componentes de un Potencial Evocado.

El programa de captura permite adquirir hasta 12 canales de señales analógicas que se digitalizan a través de un convertidor analógico-digital que se encuentra en la computadora. El programa formula al usuario las siguientes preguntas:

- a) número de canales a utilizar.
- b) frecuencia de muestreo en Hz.
- c) número de segmentos que se van a capturar.
- d) inicio de la captura con disparo externo?.
- e) número de puntos antes del pulso de disparo.
- f) número de puntos después del pulso de disparo.
- g) promediar los segmentos al finalizar la captura?.
- h) captura continua de los segmentos de EEG?.
- i) Rechazar segmentos saturados?.
- j) convertir a microvolts?.
- k) valor de los pulsos de calibración.

Al iniciar el programa se toman registros con pulsos de calibración y segmentos de línea base de señal electroencefalográfica, los que permite calibrar los potenciales evocados que se registren a su valor real en microvolts.

Se crea un archivo de datos independiente por cada canal registrado, conteniendo cada uno de ellos el total de Potenciales Evocados registrados. Estos archivos se pueden procesar para obtener los datos de latencia y amplitud de cada componente.

El programa rechaza los segmentos que estén saturados por la presencia de un voltaje superior al establecido en la ventana de entrada del convertidor analógico-digital, como el efecto piezoeléctico obtenido por el movimiento de los electrodos.

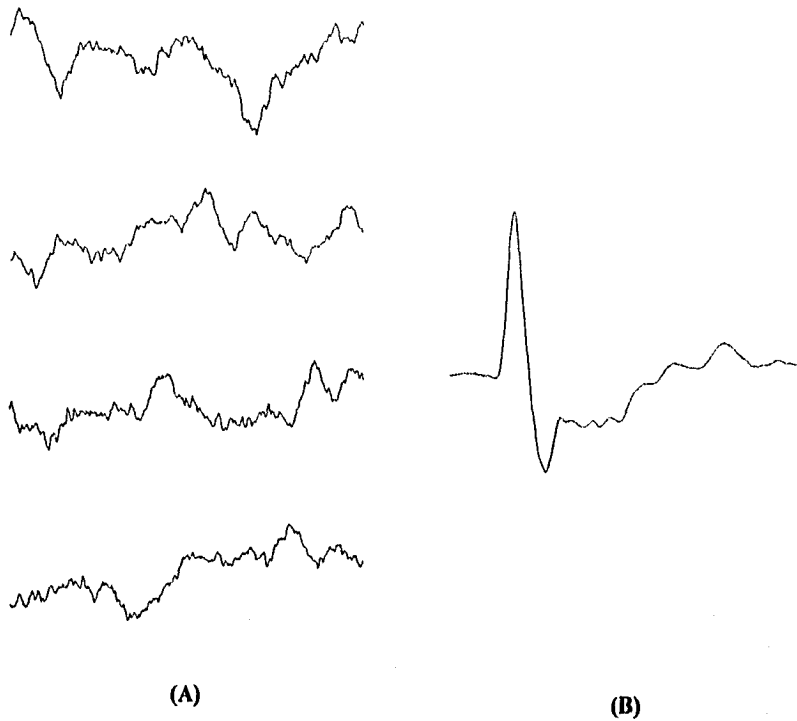


Figura 2. El proceso de promediación de la señal requiere una relación constante en el tiempo, entre la presentación del estímulo y el registro de la señal. Observe que en la columna (A) la computadora registra solamente la parte de la actividad eléctrica espontánea que sigue al estímulo, y en (B) la promediación de 150 segmentos de EEG da como resultado un potencial evocado con sus diferentes componentes.

4. POTENCIALES EVOCADOS VISUALES

En el hombre, Squires y cols. (1978) demostraron que la ingesta de alcohol aumenta las latencias de los potenciales auditivos de corta latencia, en especial de las ondas III a VII. Estos resultados indican que el alcohol tiene un efecto depresivo en la transmisión neuronal de la vía auditiva del tronco encefálico.

En pacientes en coma el estudio de los potenciales evocados de corta latencia permite determinar la integridad del tronco encefálico. Así, en pacientes en coma por traumatismo craneoencefálico, la presencia de potenciales de corta latencia normales indica que no hay sufrimiento del tronco. La evolución clínica y la de los potenciales evocados suele ser paralela.

Para la obtención de los potenciales evocados visuales (PEV) se pueden utilizar diversas fuentes de luz. La luz del estroboscopio fue utilizada ampliamente en un principio, pero con el advenimiento de las computadoras promediadoras se comenzaron a utilizar estímulos más complejos que la luz difusa del estroboscopio. Además, a partir de 1965, se demostró en la experimentación animal, que la mayoría de las células visuales corticales responden más vigorosamente a un estímulo con contornos que a uno sin ellos.

4.1.0 TECNICA DE REGISTRO

Estímulo

Los PEV pueden ser modificados dependiendo de la variación del intervalo y la intensidad del estímulo, Sato y cols. (1982) observaron que la amplitud de cada componente del PEV y del Electrorretinograma incrementa paralelamente con la prolongación del intervalo e intensidad del estímulo.

Electrodos

Para el registro de los potenciales evocados visuales en pacientes se utilizan electrodos ubicados en la línea media a 15 cm por arriba delinion en (CZ) y dos electrodos a cada lado de este último (C3 y C4), en trabajos de investigación con animales los electrodos que se ocupan son de profundidad y colocados en la vía visual.

4.1.1 APLICACIONES CLINICAS DE LOS POTENCIALES EVOCADOS VISUALES

Los potenciales evocados proveen una medida objetiva y cuantitativa de la función sensorial estudiada, y por tanto, son de gran importancia en la práctica clínica, así como también su aplicación es relevante en la práctica neurológica y en oftalmología.

ALTERACIONES OCULARES

Los potenciales evocados visuales pueden objetivar la agudeza visual, dada la correlación entre la amplitud del potencial evocado y la claridad del foco. Cuando la agudeza visual es inferior a 5/10, el potencial evocado siempre se reduce en amplitud. Asimismo, errores de refracción u opacidades se asocian con reducción al voltaje de los PEV.

En las retinopatías, los PEV se hallan alterados, especialmente en lo que respecta a la amplitud. La reducción del voltaje es paralela a la reducción de la agudeza visual. El Electrorretinograma es importante en estos casos porque señala que la alteración de los PEV se relaciona con la alteración del receptor. En casos graves ambos están abolidos.

En caso de glaucoma, con defectos del campo visual, se ha observado prolongación de las latencias de los PEV, similar a lo observado en la neuritis retrobulbar, aunque de menor magnitud.

En casos de cataratas unilateral se utilizan los PEV como método para pronosticar la recuperación visual post-operatoria.

LESIONES DEL NERVIO OPTICO

En casos de tumores de la órbita se puede observar reducción de la amplitud del PEV del ojo afectado. Más raramente puede observarse prolongación de la latencia de la onda P1. Si la agudeza visual se halla muy reducida, el PEV puede no detectarse.

Las compresiones del nervio óptico producidas por tumores hipofisarios se asocian generalmente con alteraciones bilaterales. En cambio, los meningiomas del ala del esfenoides se asocian a alteraciones unilaterales. Estas compresiones del nervio óptico generalmente producen ausencia de respuesta a la estimulación o bien, en caso que se obtenga respuesta, gran distorsión de las ondas (Halliday, 1976). Más raramente puede observarse prolongación de las latencias. Asimismo, los tumores del nervio óptico, o la atrofia del mismo, se caracterizan por ausencia de respuestas.

ENFERMEDADES DESMIELINIZANTES

Se caracterizan por presentar bloqueo de la conducción de las fibras del sistema nervioso central. Cuando la desmielinización no es completa no se produce bloqueo de la conducción pero las fibras conducen a velocidad disminuida (McDonald, 1977).

En la neuritis óptica unilateral es característico que se prolongue la latencia de la onda P1, más allá de sus límites normales.

El nervio óptico y el quiasma están involucrados en los cambios de la forma y las latencias de los diferentes componentes del PEV. Así como en los nervios periféricos, hay procesos de enfermedad en el SNC que conducen a una desmielinización segmental, causando retraso en la conducción y en la dispersión del incremento temporal y bloqueo en la conducción, estas luego se manifiestan en los correspondientes cambios del PEV. Las

enfermedades que involucran degeneración axonal y neuronal afectan el sistema de conducción a un grado más pequeño, a menos que tenga numerosos engrosamientos, y los axones de conducción rápida hayan sido destruidos, la latencia del PEV puede estar dentro del rango normal, aunque la amplitud esté claramente reducida.

4.2.0 ONDA P300 (P3) Y VARIACION CONTINGENTE NEGATIVA (VCN)

Estos potenciales evocados, obtenidos tanto por sonido como a estímulos visuales, muestran diferencias en función al grado de incertidumbre con respecto a la modalidad del estímulo (Sutton y cols., 1965). De esta manera se pudo demostrar que los potenciales evocados pueden depender no sólo de la cualidad física del estímulo utilizado, sino que además pueden variar en función de la información que éste provee (Sutton y cols., 1967). Así se puede demostrar que varía el potencial que se produce en los 300 mseg que siguen al estímulo (componente P300 o P3). Squires y cols. (1975) identificaron dos tipos distintos de componentes tardíos con esta latencia, los cuales difieren no sólo en latencia, sino también en topografía y en correlación psicológica.

La forma más simple de obtener estos potenciales consiste en estimular al paciente con una serie de estímulos regulares entre los cuales se introduce, en forma ocasional, una señal que consiste en una variación del mismo estímulo. El paciente debe contar, y por lo tanto detectar, tales señales. Asimismo, la onda P3 puede detectarse omitiendo ocasionalmente un estímulo. El paciente debe contar el número de omisiones. La onda P3 varía en función a diversos factores psicológicos, tales como la atención que el paciente esté dispuesto a prestar a la prueba y a la dificultad en detectar la señal y su confianza en decidir si tal señal existió o se omitió entre los estímulos enviados.

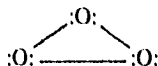
Utilizando un registro de corriente directa, puede detectarse una variación negativa de la línea de base, cuando un estímulo de advertencia preceda a un estímulo que requiere una respuesta, también llamado estímulo imperativo. Se ha observado que esta onda de expectación, es de menor amplitud en sujetos sumamente ansiosos comparados con sujetos

de ansiedad reducida. Asimismo se ha observado que personas introvertidas presentan una onda de expectación mayor que las extrovertidas.

En nuestro estudio sólo se evaluaron los componentes primarios, ya que con nuestros animales no se puede evaluar el grado de atención.

5. OZONO

El ozono es una molécula formada por tres átomos de oxígeno:



Como resultado de la presencia de seis electrones en uno de sus átomos, el ozono produce reacciones electrofílicas; esto es, que remueve electrones de otras moléculas o iones. El ozono es uno de los agentes más reactivos de la naturaleza. Las propiedades físicas del ozono son las siguientes:

Estado Físico	gas incoloro
Formula Química	O ₃
Peso Molecular	48.0
Gravedad Específica en el aire	1.658
Solubilidad a 0°C a 1 atm	0.494 ml/100 ml de agua

Existen dos tipos de ozono: uno, se localiza a 20 Km de altura de la superficie terrestre y forma parte de la estratosfera, la cual absorbe más del 90% de los rayos ultravioletas. El otro tipo de ozono se encuentra presente en la atmósfera, es un gas irritante que afecta principalmente las vías respiratorias al penetrar en los pulmones. Es un gas de elevada toxicidad y de acción rápida (Legorreta y Flores, 1992).

El O₃ se clasifica como un contaminante secundario ya que se forma a partir de otros agentes tóxicos, como los óxidos de nitrógeno (NO_x) y compuestos orgánicos volátiles (hidrocarburos reactivos), los cuales, por medio de reacciones químicas que son dependientes de la radiación solar forman moléculas de O₃ (USEPA, 1989). Bajo condiciones normales, el O₃ es una molécula muy inestable ya que rápidamente regresa a oxígeno molecular. El

incremento en la emisión de los precursores del O_3 ha hecho que este gas se acumule convirtiéndose en el principal componente de la contaminación atmosférica fotoquímica (Bravo y cols., 1988).

En los últimos años, la contaminación atmosférica por O_3 se ha incrementado notablemente en la Ciudad de México y muchas otras grandes ciudades, alcanzando promedios hasta de 0.42 ppm, por lo que resulta de gran importancia conocer los efectos nocivos que este contaminante puede ocasionar sobre la salud humana. Se ha establecido que la concentración máxima de exposición a la que puede estar sujeto el hombre, sin que al parecer ocurran efectos adversos en su salud, es de 0.11 ppm, valor que constituye un promedio por hora que no debe de excederse más de una vez por año (Wright y cols., 1990).

Se ha demostrado que la inhalación de concentraciones de O_3 por arriba del límite permisible es capaz de producir diversos efectos tóxicos sobre la salud tanto en el hombre como en los animales (USEPA, 1989).

5.1.0 CONTAMINACION ATMOSFERICA POR OZONO

El ozono es uno de los gases que se encuentran con un mayor porcentaje en la atmósfera de las grandes ciudades con problemas de contaminación, aunque también se encuentran presentes otros oxidantes como lo son el Nitrato de Peroxi-Acetil y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Estos compuestos y muchos otros subproductos intermedios son producidos fotoquímicamente por la acción de la energía ultravioleta del sol sobre las emisiones de los óxidos de nitrógeno ($NO_2 + NO$). Los cuales resultan de procesos de combustión a alta temperatura, evaporación de combustibles, así como de los Compuestos Orgánicos Reactivos (COR) emitidos a la atmósfera por uso de solventes.

Una característica importante de los oxidantes es que éstos no son emitidos directamente a la atmósfera, sino que son formados en el aire a través de reacciones

fotoquímicas. En las grandes ciudades, la formación del ozono involucra la interacción de reacciones simultáneas en las que los mecanismos oxido-reducción actúan sobre un gran número de especies. Los subproductos de COR y los compuestos inorgánicos, como los óxidos de nitrógeno, llevan a inducir niveles de ozono por arriba de los 0.11 ppm. La atmósfera de la zona metropolitana padece de esta problemática como consecuencia de que se han fortalecido dos actividades promotoras de la actividad fotoquímica: 1) la emisión de compuestos orgánicos con alto potencial de reactividad, y 2) la emisión excesiva de óxidos de nitrógeno por la alteración de los procesos típicos de combustión.

En la actualidad el problema de contaminación por oxidantes fotoquímicos es quizás el más grave de la zona metropolitana de la ciudad de México. Su formación fotoquímica y distribución espacial en la superficie obedece claramente a mecanismos de transporte atmosférico, y a la existencia de concentraciones de precursores como compuestos orgánicos reactivos y óxidos de nitrógeno.

La falta de suficientes especialistas y académicos preparados en la problemática de la presencia del ozono en zonas urbanas es evidente, por lo que se requiere de mayores esfuerzos de educación ambiental inmediatos y que sean aplicados a todos los niveles, además de que hace falta más investigación sobre los efectos de este contaminante en la salud, en sus manifestaciones clínicas consecutivas a su inhalación inmediata, en el significado que tienen funcional y morfológicamente, y en las secuelas que dejan en la población.

5.1.1 EFECTOS TOXICOS DEL OZONO

Los efectos nocivos del O₃ se han explicado por la formación de radicales libres que se derivan de la reacción de dicho gas con ácidos grasos insaturados que forman parte del factor surfactante y del moco de las células epiteliales del pulmón (Kennedy y cols., 1992). Estas moléculas reaccionan fácilmente con las uniones insaturadas de los ácidos grasos, desencadenando una serie de reacciones que se manifiestan por la producción de radicales

libres en los tejidos vecinos (Freeman y Crapo, 1982). Los radicales libres pueden difundirse desde el sitio de formación a otros lugares incrementando la peroxidación de ácidos grasos en sitios distantes al origen de la reacción inicial con el O_3 (Halliwell y Gutteridge, 1984; Pryor, 1992). En las reacciones del O_3 con los ácidos grasos también se forman epóxidos y dialdehídos, tales como el malonaldehído, los cuales podrían ser los responsables de la extensión de daño celular a estructuras distantes (Mustafa, 1990; Steinberg y cols. 1990). Se ha propuesto que el daño provocado por la peroxidación de los epitelios del aparato respiratorio podrían diseminarse hacia el torrente circulatorio. Una vez que los productos de la peroxidación están en el torrente circulatorio es fácil su difusión a otros sistemas extrapulmonares, como es el Sistema Nervioso Central, que es susceptible al estrés oxidativo, provocado por la presencia de radicales libres (Harman, 1983; Floyd y cols. 1984), esta susceptibilidad se ha atribuido a que el sistema nervioso posee un alto contenido de ácidos grasos insaturados, a que las células nerviosas utilizan un alto consumo de oxígeno, a un bajo nivel de sustancias amortiguadoras tales como el glutatión y ciertas enzimas antioxidantes, así como a la misma producción endógena de radicales libres que se generan durante el metabolismo celular y durante el catabolismo de la dopamina (Evans, 1993).

Durante la inhalación de O_3 , las vías aéreas constituyen la primera barrera tisular expuesta a sus efectos dañinos y en ellas, este gas es capaz de desencadenar diversas alteraciones bioquímicas, morfológicas y funcionales (USEPA, 1989; Victorin, 1992).

Ratas expuestas a 0.1 y 0.2 ppm de O_3 presentan bradicardia y arritmias en los registros electrocardiográficos; estas alteraciones son atribuidas a la estimulación parasimpática (Arito y cols., 1990). Si bien el O_3 incrementa la frecuencia respiratoria en ratas expuestas a 1.0 ppm de O_3 , este gas no provoca modificaciones en el pH ni en la presión parcial del O_2 de la sangre (Tepper y cols., 1990), estos autores encontraron elevada la presión parcial del CO_2 , aunque durante la exposición al O_3 también se administró CO_2

al 2% cada 15 minutos, con objeto de simular las condiciones de hiperventilación que ocurren durante el ejercicio muscular.

5.1.2 ALTERACIONES FUNCIONALES RESPIRATORIAS

La exposición al O₃ sí modifica los patrones respiratorios desde concentraciones tan bajas como 0.26 ppm durante 2 horas tanto en humanos (Folinsbee, 1992) como en diversas especies animales (Grose y cols., 1988). Este gas disminuye los volúmenes y flujos pulmonares e incrementa la resistencia de las vías aéreas. La gravedad de estas anomalías varía en forma directamente proporcional a la concentración de O₃ inhalada.

Mediante pruebas funcionales del aparato respiratorio se ha encontrado en sujetos sanos, no fumadores, una disminución significativa en la capacidad vital forzada y en el volumen expiratorio forzado durante 1 segundo; éstos medidos durante el ejercicio muscular realizado en un ambiente de 0.02 a 0.12 ppm de O₃ (Spektor y cols., 1988). En un estudio realizado en 148 niños de 7 a 9 años que vivían y estudiaban dentro de un área de 5 kilómetros en el suroeste de la ciudad de México, en cuyo epicentro se midió más de 0.12 ppm de O₃ diariamente durante 6 meses, se encontró una disminución significativa de la capacidad vital forzada (Castillejos y cols., 1992). Resultados similares se han reportado en niños de 5 ciudades alemanas (Schwartz y cols., 1991), en Los Angeles California (Kilburn y cols. 1992) y en las ciudades de Kingston y Harriman Tennessee (Kinney y cols., 1989). Experimentalmente se han demostrado cambios funcionales en el pulmón, que requieren de 6 meses para regresar a los valores control en ratas crónicamente expuestas a condiciones de O₃ similares a las reportadas en diferentes ciudades (ciclos desde 0.06 ppm de O₃ con un pico máximo de 0.25 ppm, 5 días a la semana durante 12 meses (Gross y cols., 1988).

Otra alteración funcional importante que puede desencadenar el O_3 es la hiperreactividad de las vías aéreas, la cual consiste en un aumento de la sensibilidad del músculo liso traqueobronquial a diferentes estímulos broncoconstrictores. En este sentido, se sabe que la inhalación aguda de 0.18 a 0.4 ppm de O_3 en humanos o de 1 a 3 ppm en cobayos y perros produce hiperreactividad de las vías aéreas.

5.2.0 EFECTOS DEL OZONO EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Se ha reportado un incremento en el metabolismo proteico del encéfalo en ratas expuestas *in vivo* a 1.0 ppm de O_3 , así como una disminución de serotonina en el encéfalo total de ratas expuestas a 6.0 ppm de O_3 durante 4 horas, y cambios en los niveles de las enzimas monoamino oxidasa y catecol-o-metil transferasa en la corteza parietal de perros expuestos a 1.0 ppm de O_3 (Trams y cols., 1972).

Entre las manifestaciones reportadas por los sujetos expuestos al O_3 se refieren síntomas de fatiga, letargia y dolor de cabeza (Hacney y cols., 1975; Hacney y cols., 1977; Lategola y cols., 1980). Experimentalmente se ha reportado disminución de la actividad motora en ratas expuestas entre 1.2 y 1.5 ppm de O_3 durante 6 horas (Tepper y cols., 1982; Tepper y cols., 1985), disminución en la frecuencia para ingerir agua y alimentos, disminución para responder durante las pruebas de condicionamiento operante (Weiss y cols., 1981), así como disminución significativa en la amplitud y aumento de la latencia de aparición de los componentes tempranos de los potenciales evocados en la corteza visual de conejos expuestos a 0.5 ppm de O_3 durante 1 hora (Xintaras y cols., 1966; Bokina y cols., 1976).

Estudios electroencefalográficos del sueño, muestran una disminución significativa del tiempo total de sueño paradójico desde las primeras 8 horas de exposición a 0.4 ppm de O_3 en el gato (Paz y Bazán-Perkins, 1992), así como después de 3 horas de exposición a 1.0 ppm de O_3 en la rata (Arito y cols., 1992). En un estudio realizado en ratas de 30, 60

y 90 días de edad realizado en un ambiente libre de contaminantes, pero que sus madres fueron expuestas durante toda la gestación por 12 horas diarias a 1.0 ppm de O₃, se encontró además de una reducción del peso corporal, una disminución permanente de más del 50% del sueño paradójico así como aumento en el tiempo total de vigilia y alteraciones del ritmo circadiano (Haro y Paz, 1993). El efecto permanente en estos animales podría ocurrir como consecuencia de una susceptibilidad acrecentada durante la diferenciación embrionaria. Es sabido que los sistemas antioxidantes tales como la vitamina E y las enzimas CU-Zn superoxidodismutasa y glutatión peroxidasa se encuentran disminuidas en el tejido fetal (Günther y cols., 1993).

Alteraciones del sueño similares a las anteriores han sido registradas junto con un incremento significativo de serotonina y de su metabolito el ácido 5-hidroxiindolacético tanto a nivel pontino como mesencefálico; mientras que ambas aminas se encontraron disminuidas en el hipotálamo (Huitrón y cols., 1994). La serotonina ha sido ampliamente relacionada con los mecanismos generadores del sueño (Jouvet, 1969). Se sabe que el sueño paradójico disminuye significativamente en los animales inyectados con serotonina a nivel pontino (Leonard y Llinas, 1990), mientras que el propuesto factor hipnogénico generado en el hipotálamo (Chastrese y cols., 1990; Jouvet, 1984) podría estar deprimido en los animales con niveles altos de serotonina en el puente, tal como ocurrió en las ratas expuestas al O₃.

A pesar de que en la bibliografía se indica que la sangre y el sistema nervioso central son susceptibles a la intoxicación con O₃ o con sus productos de reacción, no se sabe si este gas podría causar por sí mismo las alteraciones que se le atribuyen, como son las modificaciones de los componentes de los potenciales evocados.

Es muy poco probable que el O₃ como tal pueda penetrar al torrente circulatorio (Pryor, 1991). Sin embargo, la formación de radicales libres en el pulmón y los cambios físicos y químicos en las células sanguíneas y en el plasma, hacen posible que el sistema nervioso central, caracterizado por su alta vulnerabilidad a los radicales libres, sea blanco de los efectos tóxicos de la inhalación de O₃.

5.3.0 RADICALES LIBRES EN EL METABOLISMO Y PATOLOGIA EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Los Productos de Reacción del Oxígeno (PRO), principalmente los radicales libres de superóxido, hidroxilos y el peróxido de hidrógeno, son producidos como una consecuencia de las reacciones metabólicas y fisiológicas del Sistema Nervioso Central. Los PRO se han implicado en los procesos patológicos de diferentes entidades del cerebro. Actualmente las evidencias de la participación de los PRO en el sistema nervioso central son inferidos en forma indirecta; sin embargo, la credibilidad de la participación de las interacciones oxidativas de los radicales libres para promover lesión tisular se ha incrementado en entidades tales como el traumatismo cerebral, isquemia, toxicidad cerebrales y en enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson, la demencia de Alzheimer, la esclerosis múltiple y la lipofuscinosis (Evans, 1993). En comparación con otros órganos del cuerpo, el Sistema Nervioso es especialmente vulnerable a la lesión mediada por los PRO (Evans, 1993) debido a:

- 1.- La alta tasa de actividad metabólica oxidativa.
- 2.- La alta concentración de sustrato fácilmente oxidable, en particular ácidos grasos poli-insaturados en los lípidos de membrana.
- 3.- Nivel bajo de enzimas antioxidantes protectoras, principalmente Peróxidasn de Glutation (GSH) y catalasa.
- 4.- Generación endógena de PRO por reacciones neuroquímicas específicas, por ejemplo, oxidación de dopamina.
- 5.- Alta proporción del área de superficie de membrana en relación al volumen citoplásmico.
- 6.- Morfología axonal extendida susceptible a lesión periférica.
- 7.- Red anatómica neural vulnerable a la ruptura.

Mientras que los PRO se han implicado en la patogénesis de un número de procesos patológicos del cerebro, la obtención de evidencias convincentes para validar aseveraciones

similares en otros órganos y en otras entidades patológicas, no ha podido ser bien definida (Evans, 1993). La reactividad intrínseca de los PRO, acoplada con la inaccesibilidad general del cerebro in vivo a ser analizado bioquímicamente, ha significado que la evidencia directa para el compromiso de los PRO pueda ser establecido. Por lo tanto las evidencias disponibles consisten en la medición de índices elevados de marcadores de peróxidos de los lípidos, de los niveles de antioxidantes tisulares y de la inhibición de radicales libres. Los hallazgos de la generación de los PRO incrementados, mediados por la activación aumentada, la elevación de la respiración celular o por la elevada concentración de hierro, da evidencias circunstanciales del papel etiopatogénico del estrés oxidativo.

5.3.1 METABOLISMO DE RADICALES LIBRES EN EL CEREBRO

5.3.2 OXIDANTES

Dentro del cerebro existe una variedad de mecanismos bioquímicos que resultan de la producción de PRO, esto incluyen oxidaciones catalizadas por monoamina oxidasa de las catecolaminas y dopamina, así como en el metabolismo de prostaglandinas, catálisis de hierro, y la activación de las células microgliales del tipo de macrófagos y también la generación de óxido nítrico por el endotelio y neuronas cerebrales (Snyder, 1992).

5.3.3 ANTIOXIDANTES

La defensa antioxidante en el sistema nervioso es provista por la vitamina C soluble en agua y la vitamina E soluble en grasa, así como también de la GSH y los quelantes de hierro, carnosina y homocarnosina. Las enzimas antioxidantes relacionadas con la GSH, son relativamente bajas en el sistema nervioso periférico, mientras que dentro del sistema nervioso central los estudios *in vitro* sugieren que la GSH está principalmente concentrada en los astrocitos (Raps y cols., 1989). En el caso de la concentración de la Superóxido Dismutasa (SOD) y la catalasa, se encuentran en niveles bajos en el cerebro. Sin embargo, los estudios *in vitro* en neuronas de rata han indicado que la actividad de la catalasa puede

ser inducida por el factor de crecimiento neural (Jackson y cols., 1990), una propiedad que pudiera ser relevante para las actividades tróficas. Los niveles de enzimas antioxidantes y de proteínas de unión al hierro en el líquido cefalorraquídeo también están muy bajos (Halliwell, 1989).

Estudios experimentales en las ratas han demostrado una disminución en diferentes regiones del cerebro referidos con la edad, en la superóxido dismutasa, peroxidasa de glutatión así como de la peroxidasa de glutatión hipocámpal (Ravindranath y cols., 1989).

5.3.4 DAÑO OXIDANTE

Se ha descrito una variedad de efectos dañinos de los PRO sobre la función neuronal, esto incluye: incremento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, alteración en la formación de tubulina, inhibición de la respiración mitocondrial y, perturbaciones en la transmisión sináptica y función iónica (Dabrowiecki, 1985). A la vulnerabilidad del cerebro envejecido y a las enfermedades degenerativas, han contribuido los mecanismos homeostáticos, la producción de los PRO incrementados, las defensas antioxidantes comprometidas, la lipofuscina incrementada, la acumulación de enzimas con daño oxidativo y la pérdida de neuronas.

JUSTIFICACION

Existen trabajos en los que se reporta que animales de experimentación como ratas, gatos, perros etc., así como el hombre, presentan alteraciones de la vía respiratoria por exposición a diferentes concentraciones de O_3 (Spektor y cols., 1988; Gross y cols., 1991; Kennedy y cols., 1992; Pinkerton y cols., 1993).

Si bien el O_3 es capaz de alterar la vía respiratoria, nos preguntamos si este gas también es capaz de alterar al SNC. Se ha reportado que por exposición a este contaminante son modificadas las fases de sueño (Paz y Bazán-Perkins, 1991; Arito y cols., 1990), y los niveles de algunos neurotransmisores a diferentes concentraciones (Huitrón-Reséndiz y cols., 1993; Trams y cols., 1972). Una de las preocupaciones del grupo de trabajo del Departamento de Neurofisiología es ver si hay alteraciones en funciones sensoriales que son controladas por el SNC, producidas por el O_3 . En el presente trabajo se valoró el efecto de la exposición de O_3 , durante 4 horas a tres concentraciones (0.75, 1.5 y 3.0 ppm) referidas por su toxicidad sobre el SNC en la bibliografía, sobre el funcionamiento de la vía visual de la rata, mediante el registro de Potenciales Evocados.

Los PEV son un buen índice de la velocidad de respuesta ante un estímulo, para analizar la capacidad de sobrevivencia en los organismos y cuantificar la susceptibilidad para ser alterado por cambios en el medio ambiente.

6. HIPOTESIS

Si la inhalación de ozono es capaz de provocar alteraciones fisiológicas inespecíficas del SNC, tales como alteraciones conductuales, trastornos del sueño y cambios en la bioquímica cerebral, se espera encontrar modificaciones en la funcionalidad de la vía visual, capaces de ser cuantificadas mediante la técnica de Potenciales Evocados.

7. OBJETIVOS

El presente trabajo tuvo como objetivo analizar los efectos del ozono sobre el funcionamiento de la vía visual de la rata, analizando los cambios en los componentes de los potenciales evocados en el Cuerpo Geniculado lateral (CG) y la Corteza Visual (CV), producidos mediante la estimulación fótica.

Hacer una curva dosis respuesta, probando las diferentes concentraciones de ozono y midiendo las alteraciones producidas en los diferentes componentes de los potenciales evocados.

6. HIPOTESIS

Sí la inhalación de ozono es capaz de provocar alteraciones fisiológicas inespecíficas del SNC, tales como alteraciones conductuales, trastornos del sueño y cambios en la bioquímica cerebral, se espera encontrar modificaciones en la funcionalidad de la vía visual, capaces de ser cuantificadas mediante la técnica de Potenciales Evocados.

7. OBJETIVOS

El presente trabajo tuvo como objetivo analizar los efectos del ozono sobre el funcionamiento de la vía visual de la rata, analizando los cambios en los componentes de los potenciales evocados en el Cuerpo Geniculado lateral (CG) y la Corteza Visual (CV), producidos mediante la estimulación fónica.

Hacer una curva dosis respuesta, probando las diferentes concentraciones de ozono y midiendo las alteraciones producidas en los diferentes componentes de los potenciales evocados.

8. MATERIAL Y METODOS

8.1.0 SUJETOS

Se ocuparon 15 ratas de la cepa Wistar con un peso promedio de 250 a 300 gr. Se mantuvieron en cajas estándar de bioterio (26 X 36 X 16 cm) con comida y agua *ad libitum*, y un período de luz-oscuridad de 12:12 horas que estaba comprendido entre las 8:00 y 20:00 horas para el periodo de luz y de las 20:00 a las 8:00 horas el periodo de obscuridad; el bioterio donde se encontraban las ratas cuando no eran registradas, estaba libre de contaminantes, esto se comprobó al monitorcarlo con el detector de ozono.

8.2.0 CIRUGIA

Para las cirugías se utilizó un estereotáxico David Köpf para ratas, electrodos bipolares de acero inoxidable, material quirúrgico y farmacéutico convencional. Bajo anestesia con Ketamina (100 mg/Kg de peso i.p.) se colocó a las ratas en el esterotáxico para implantar electrodos bipolares en el Cuerpo Geniculado Lateral derecho y la Corteza Visual derecha, con las siguientes coordenadas: CG anterior 4.7 mm, lateral 4.0 mm y profundidad de 4.5 mm, en el caso de la CV lateral a 3.5 mm de la línea media, 2.2 mm por adelante de la línea interaural y 1.5 mm de la superficie epidural, la cirugía se realizó tomando como referencia la línea interaural según el atlas de Paxinos y Watson (1982). Los electrodos se soldaron a miniconectores y se fijaron al cráneo con tornillos y acrílico dental, se dejó una semana de recuperación postoperatoria, para después ser colocadas en cámaras sonoamortiguadas para el registro de los potenciales evocados.

8.3.0 REGISTRO DE LOS POTENCIALES EVOCADOS

Una vez colocada la rata en la cámara de registro que tenía las siguientes dimensiones (30 x 30 x 25 cm), además de estar provista con paredes de espejos con el fin de que el destello luminoso siempre estuviera visible para la rata.

A través de una trenza de cables delgados flexibles se hacía la conexión de los electrodos de la rata a un polígrafo Grass 78D. Por medio de un estimulador Grass S88 se generaron pulsos de sincronía que disparaba el barrido del osciloscopio, así como la salida del foto estimulador Grass PS22 con una latencia de 20 mseg. La señal del osciloscopio se transmitía a una computadora provista con un programa de captura de señales bioeléctricas (Guevara y cols., 1993), además de hacer la promediación de 150 potenciales, así como el análisis de amplitud y latencia de los diferentes componentes (P1, N1 y P2) de los potenciales evocados para ambas estructuras (CG y CV), cabe aclarar que el potencial evocado obtenido de cada media hora y que se ocupaba para el análisis de los componentes, era el promedio de 150 potenciales individuales. En el esquema 1 se muestra el dispositivo experimental para el registro de los potenciales evocados.

El tiempo de análisis post estímulo fué de 226 mseg, la señal estaba compuesto por 512 puntos, con un intervalo de 0.48 mseg entre cada uno. Las características de la captura de la señal fué establecida, para obtener potenciales evocados tempranos, comprendidos hasta los primeros 50 mseg en ratas (Creel, 1974; Delamónica E.) en los cuales se ha visto que la respuesta es generada por las características del estímulo, y no de la atención del animal.

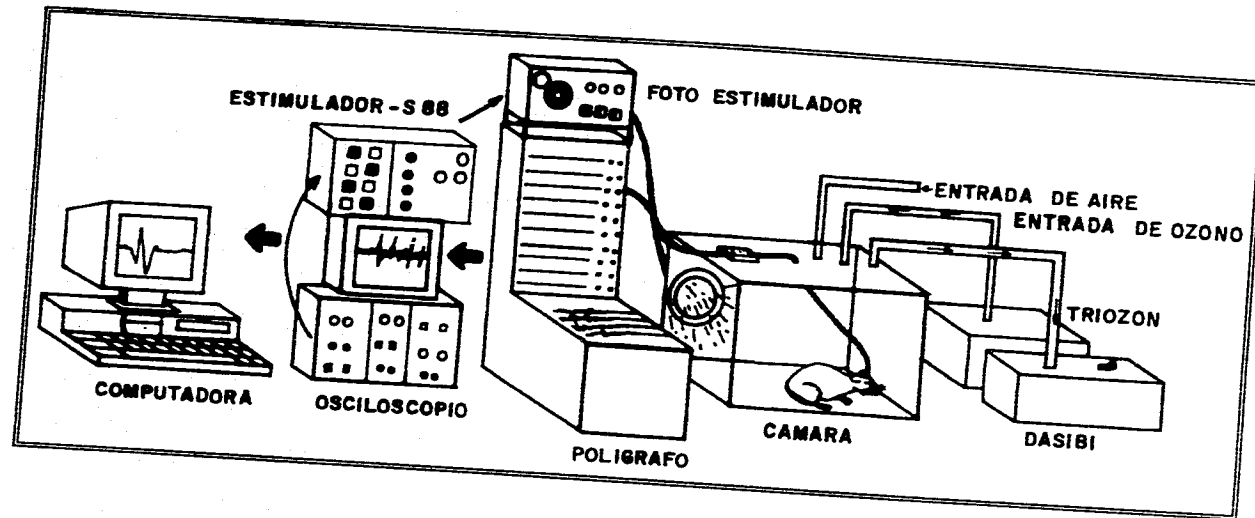
La señal fue grabada y almacenada en una computadora tipo PC 486 para su posterior análisis. En la figura 3 se muestra la localización de los componentes considerados para el análisis de nuestros potenciales evocados.

8.4.0 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

A cada rata se le tomó un registro control en un ambiente de aire libre de contaminantes (1.7 lpm). El registro electrográfico consistió en la estimulación fótica con 150 destellos de 4 lúmenes, con un intervalo de medio segundo entre cada uno. Estos estímulos se aplicaron cada 30 minutos hasta completar un período de 4 horas, obteniendo así ocho potenciales por sesión y cada uno de ellos era el promedio de los 150 destellos aplicados cada media hora. Posteriormente se registraron 3 sesiones más, en las cuales se administró 0.75, 1.5 y 3.0 ppm de O₃. Se dejó pasar un intervalo de 15 días entre cada concentración, para tomar un nuevo registro experimental.

Las ratas que se ocupaban para el registro control, eran las mismas que se registraban en las sesiones experimentales.

Antes de cada sesión experimental, se obtuvo un potencial evocado con las mismas características de la condición control, este potencial se comparó con los registros control, para ver si existía alguna modificación después de cada exposición a O₃. La generación de O₃ se realizó mediante un generador TRIOZON P15 y la cuantificación del O₃ se llevó a cabo a través de un analizador fotométrico de luz UV, marca DASIBI 1008-PC.



Esquema 1. Dispositivo para la obtención del potencial evocado, el diseño de la cámara nos permite estar administrando aire libre de contaminantes cuando se efectúa un registro control, a la vez que se puede administrar ozono en las concentraciones deseadas. La conexión del conector de la rata al poligrafo se hace a través de una trenza de cables flexibles que le permite al animal tener libre movimiento.

CONTROL

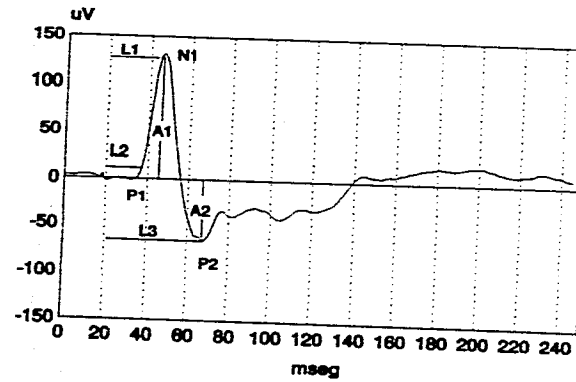


Figura 3. Se muestra un potencial evocado promediado del cuerpo geniculado lateral obtenido de una rata control, donde se observa la latencia para los tres componentes considerando P1, N1 y P2 a lo largo del tiempo. L1=latencia del componente N1, L2=latencia del componente P1, L3=latencia del componente P2, A1=amplitud del componente N1 y A2=amplitud del componente P2.

8.5.0 ANALISIS HISTOLOGICO

Una vez que se concluyeron todos los registros electrográficos, se sacrificó a las ratas mediante perfusión cardíaca, con solución isotónica, seguida de formalina en buffer al 10%. El encéfalo fue removido y guardado en formalina al 10% para el análisis histológico mediante la técnica de Hematoxilina-eosina y Kliver-Barrera, una vez que se tenían los cortes histológicos se confirmó la posición de los electrodos en el cuerpo geniculado lateral derecho.

8.6.0 ANALISIS ESTADISTICO

Se examinaron las variaciones en amplitud y latencias de los componentes P1, N1 y P2 en el cuerpo geniculado, como en la corteza visual, este análisis se realizó durante las cuatro horas de registro, ya sea en condición control o experimental.

Un primer análisis fué intra grupo, con los datos del registro control obtenidos durante las cuatro horas, para éste análisis se ocupó un diseño de bloques aleatorizados de un factor, que en este caso fué el tiempo (cada 30 minutos), cabe recordar que el análisis de los componentes de los potenciales evocados, era el promedio de los 150 destellos, y este potencial era obtenido cada media hora. Este primer análisis se efectuó para comprobar que no existiera una habituación al estímulo, o que las diferencias reportadas de animal a animal fueran significativas (Sato y cols., 1982).

Un segundo análisis se llevó a cabo para verificar si existían diferencias intra grupo con cada concentración durante las cuatro horas de registro, este análisis se efectuó para cada componente, así como para cada estructura, tanto para la latencia, como la amplitud.

9. RESULTADOS

A los datos del grupo control se les aplicó un análisis de bloques aleatorizados completos, con el propósito de ver si había diferencias significativas entre el mismo grupo, por lo tanto se comparó los resultados del grupo control obtenidos de cada media hora.

De la comparación del grupo control durante las cuatro horas de registro, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los componentes en la latencia y amplitud de ambas estructuras (CV y CG); en las tablas 1 y 2 se presentan los resultados de este análisis.

Se ha reportado que existe variación en los potenciales visuales con un 10 % en latencia y un 20 % en amplitud cuando se comparan de animal a animal (Sato y cols., 1982). Una vez que se comprobó que dentro del grupo control no existían diferencias significativas a lo largo de las cuatro horas, se prosiguió a realizar las comparaciones del grupo control, con las diferentes concentraciones manejadas.

LATENCIAS EN EL CUERPO GENICULADO LATERAL

Al analizar por cada hora, las latencias de los tres componentes (P1, N1 y P2) del Cuerpo Geniculado Lateral se observó una tendencia a incrementar, y este incremento dependía de la concentración y del tiempo de exposición. Para el caso del componente P1 a la concentración de 3.0 ppm de O₃, los mayores cambios fueron significativos desde la segunda hora de exposición, además que estos cambios se mantienen durante las dos horas restantes de exposición (Fig. 4A), mientras que el componente N1 muestra desde la primera hora de exposición diferencias significativas con 3.0 ppm de O₃, manteniéndose estos cambios hasta la cuarta hora que duró el estudio (Fig. 4B). En el caso de la latencia para el componente P2 presentó diferencias significativas desde la primera hora de exposición con 3.0 ppm de O₃, hasta el final del experimento (Fig. 4C).

Tabla 1. Latencia y amplitud media \pm error estándar de los diferentes componentes del PE del Cuerpo Geniculado, durante las cuatro horas de registro control; no hubo diferencias significativas.

LATENCIA MEDIA (mseg) EN EL CUERPO GENICULADO				
COMPONENTE	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS
P1	16.21 \pm 2.58	17.00 \pm 2.19	16.57 \pm 1.54	17.51 \pm 1.99
N1	28.00 \pm 2.63	28.50 \pm 2.10	28.57 \pm 2.10	29.57 \pm 1.90
P2	51.36 \pm 4.32	52.71 \pm 4.46	51.93 \pm 3.82	52.50 \pm 4.56
AMPLITUD MEDIA (μ V) EN EL CUERPO GENICULADO				
COMPONENTE	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS
N1	32.28 \pm 2.30	32.20 \pm 2.30	32.28 \pm 2.30	32.28 \pm 2.30
P2	30.28 \pm 4.70	30.28 \pm 4.70	30.28 \pm 4.70	30.28 \pm 4.70

Tabla 2. Latencia y amplitud media \pm error estándar de los diferentes componentes del PE de la Corteza Visual, durante las cuatro horas de registro control, no hubo diferencias significativas.

LATENCIA MEDIA (mseg) EN LA CORTEZA VISUAL				
COMPONENTE	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS
P1	19.63 \pm 2.34	21.19 \pm 1.44	19.87 \pm 1.74	20.87 \pm 1.50
N1	34.56 \pm 1.40	35.19 \pm 1.56	34.69 \pm 1.54	35.44 \pm 1.58
P2	58.37 \pm 3.65	58.30 \pm 3.21	58.81 \pm 3.42	58.87 \pm 3.67
AMPLITUD MEDIA (μ V) EN LA CORTEZA VISUAL				
COMPONENTE	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS
N1	63.31 \pm 7.10	58.75 \pm 6.05	63.31 \pm 7.10	59.81 \pm 5.60
P2	56.43 \pm 5.80	61.25 \pm 5.05	61.25 \pm 5.00	61.25 \pm 5.05

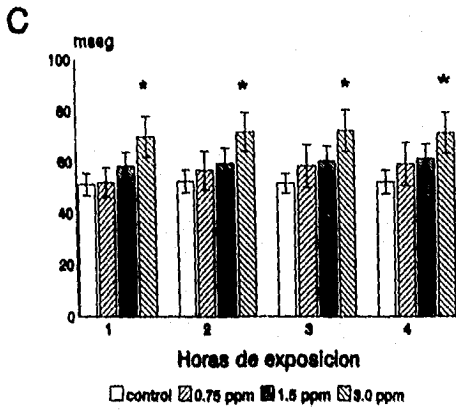
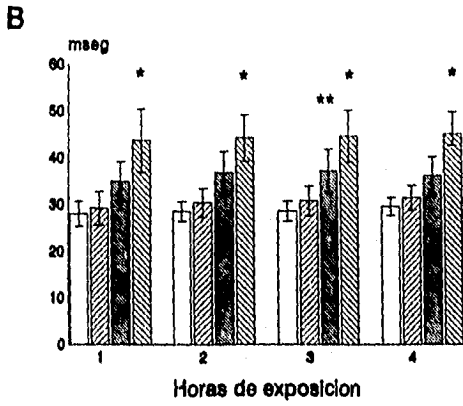
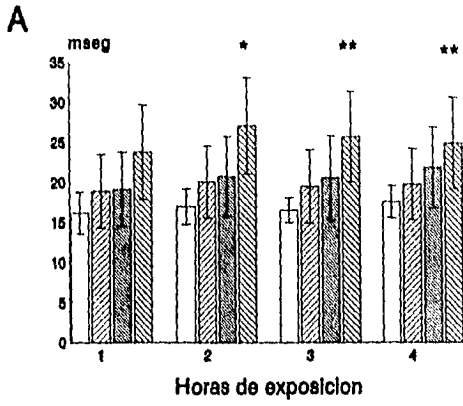


Figura 4. Se muestran las latencias de los tres componentes P1(A), N1(B) y P2(C) en el Cuerpo Geniculado ($n=14$), las barras muestran la media \pm error estándar, para el grupo control y las tres condiciones experimentales analizadas durante 4 horas. Obsérvese que existe una tendencia a incrementar la latencia de los tres componentes, y este incremento depende de la hora de exposición a ozono y de la concentración empleada, siendo la concentración de 3.0 ppm de ozono, la que más diferencias significativas presenta. * $p < 0.01$ y ** $p < 0.05$.

AMPLITUD EN EL CUERPO GENICULADO LATERAL

La amplitud de los componentes de los potenciales evocados en el Cuerpo Geniculado tanto en el componente N1 como en el P2, no presentó diferencias significativas, con ninguna de las tres concentraciones trabajadas (Figura 5A,B), aunque si hay una tendencia a disminuir la amplitud del componente P2, esto es, a mayor concentración menor amplitud, en la tabla 3 se puede observar que en promedio son 6 μ V los que disminuye la amplitud, sin ser estadísticamente significativos.

Tabla 3. Amplitud media (μ V) con error estándar de un PEV del Cuerpo Geniculado del grupo control y con las diferentes concentraciones de ozono. No hubo diferencias significativas al compararlos con los datos control.

COMPONENTE	HORA	CONTROL	0.75	1.5	3.0
N1	1	32.28 \pm 2.30	29.21 \pm 2.10	37.64 \pm 3.70	29.28 \pm 4.65
	2	32.28 \pm 2.30	31.35 \pm 2.80	35.21 \pm 4.75	37.64 \pm 4.95
	3	32.28 \pm 2.30	36.92 \pm 2.90	34.78 \pm 3.00	33.28 \pm 6.05
	4	32.28 \pm 2.30	38.78 \pm 4.10	33.85 \pm 3.50	33.35 \pm 5.60
P2	1	30.28 \pm 4.70	28.78 \pm 3.95	24.78 \pm 2.20	23.28 \pm 3.10
	2	30.28 \pm 4.70	28.78 \pm 3.95	27.42 \pm 4.70	27.14 \pm 2.95
	3	30.28 \pm 4.70	28.78 \pm 3.95	20.85 \pm 2.40	24.42 \pm 3.80
	4	30.28 \pm 4.70	28.85 \pm 4.10	20.78 \pm 2.60	24.00 \pm 3.85

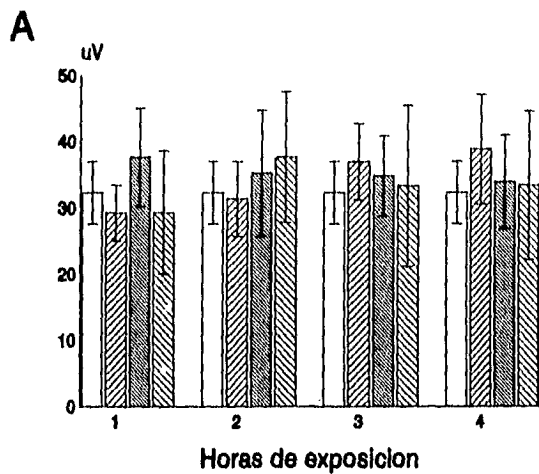
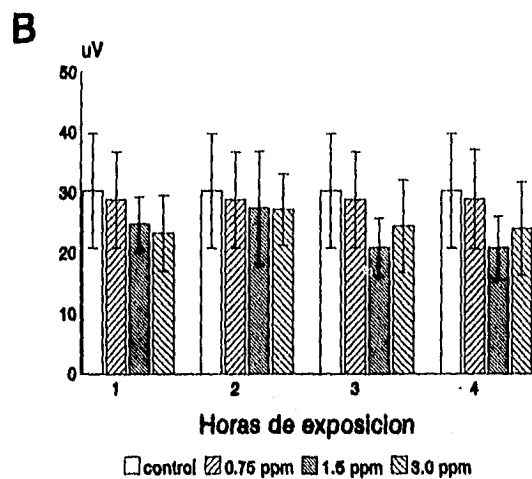


Figura 5. Se muestran las amplitudes de los componentes N1 (A) y P2 (B) en el Cuerpo Geniculado (n=14), las barras muestran la media \pm error estándar para el grupo control y las tres condiciones experimentales analizadas durante 4 horas. * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$.



LATENCIAS EN LA CORTEZA VISUAL

En la corteza visual al igual que en el cuerpo geniculado lateral, la latencia de los tres componentes (P1, N1 y P2) presentaron una tendencia a incrementar, dependiendo de la dosis de ozono y del tiempo de exposición, es decir, a mayor concentración de O_3 , la latencia aumenta. En la figura 6 se muestra el corrimiento de la latencia de los PEV con 1.5 y 3.0 ppm de O_3 . La latencia del componente P1 presentó diferencias significativas desde la segunda hora de exposición con 3.0 ppm de O_3 (figura 7A). El componente N1 presenta diferencias desde la primera hora de exposición con 1.5 y 3.0 ppm de O_3 (figura 7B), mientras que para el componente P2 hubo cambios significativos con 3.0 ppm de O_3 desde la segunda hora de exposición (figura 7C).

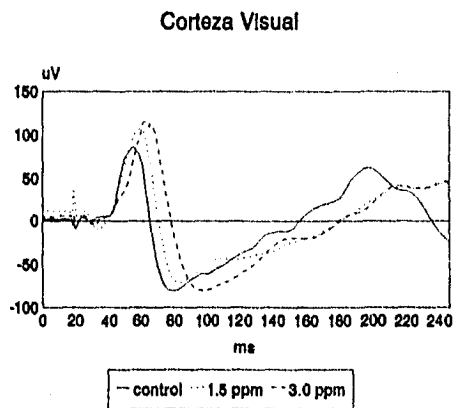


Figura 6. Potenciales Evocados típicos. Control (línea continua), con 1.5 ppm de O_3 (línea punteada) y con 3.0 ppm de O_3 (línea discontinua), mostrando el corrimiento en la latencia de los componentes.

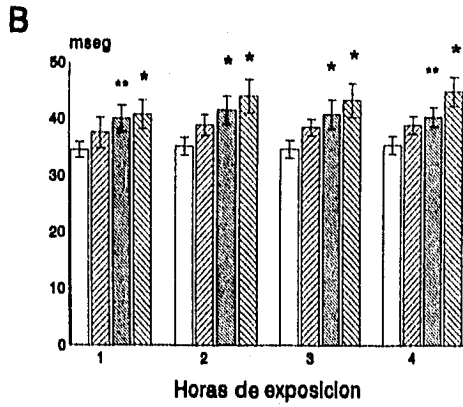
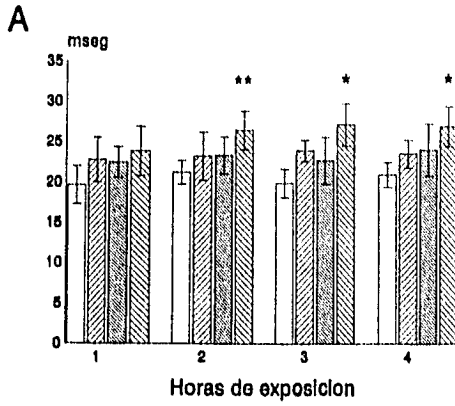
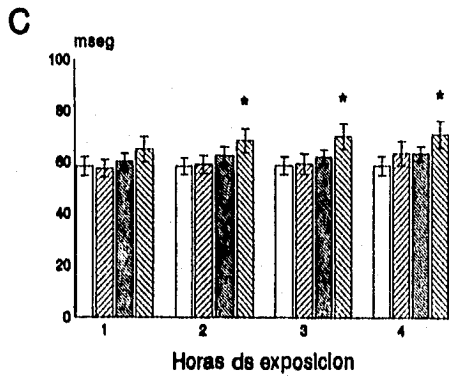


Figura 7. Se muestra las latencias de los componentes P1(A), NI(B) y P2(C), en la Corteza Visual ($n=15$), las barras muestran la media \pm error estándar, para el grupo control y las tres condiciones experimentales durante 4 horas. Al igual que el cuerpo geniculado, la latencia de los tres componentes en la corteza visual se incrementa con la exposición de ozono, siendo significativos estos cambios con 3.0 ppm, sólo el componente NI con 1.5 ppm de O_3 presentó cambios significativos desde la primera hora. * $p<0.01$, ** $p<0.05$.



AMPLITUD EN LA CORTEZA VISUAL

La amplitud de los componentes N1 y P2 en la Corteza Visual no presentaron diferencias significativas después de haberles aplicado el análisis de bloques aleatorizados completos, en la tabla 4 se presentan los valores de las amplitudes durante las cuatro horas que duro el registro, en condiciones control y con las tres concentraciones manejadas, estos datos a su vez se graficaron y se muestran en la Figura 8A y B.

Tabla 4. Amplitud media (μV) con error estándar de un PEV de la Corteza Visual del grupo control y con las diferentes concentraciones de ozono, no presentando diferencias significativas.

COMPONENTE	HORA	CONTROL	0.75	1.5	3.0
N1	1	63.30 \pm 7.10	71.50 \pm 7.70	52.70 \pm 5.55	71.50 \pm 5.00
	2	58.75 \pm 6.05	74.93 \pm 6.65	57.37 \pm 4.50	63.68 \pm 5.50
	3	63.31 \pm 7.10	62.18 \pm 6.90	52.75 \pm 5.55	63.93 \pm 6.25
	4	59.81 \pm 5.60	72.00 \pm 6.40	58.25 \pm 4.85	60.37 \pm 5.10
P2	1	56.43 \pm 5.80	61.31 \pm 5.40	58.50 \pm 4.45	73.31 \pm 4.60
	2	61.25 \pm 5.05	60.31 \pm 4.60	70.18 \pm 5.25	73.31 \pm 4.60
	3	61.25 \pm 5.00	61.31 \pm 5.54	65.56 \pm 4.95	80.93 \pm 6.05
	4	61.25 \pm 5.05	60.31 \pm 4.60	77.25 \pm 5.30	73.31 \pm 4.60

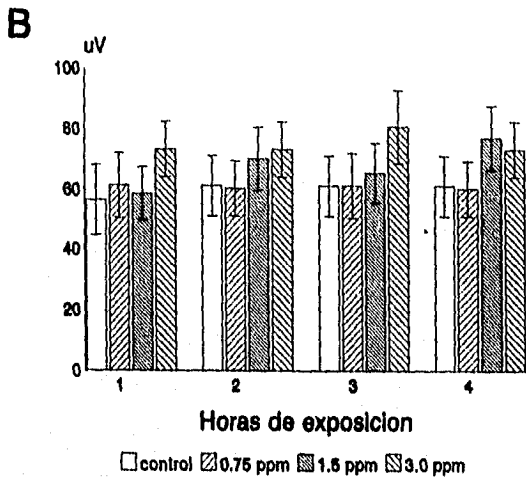
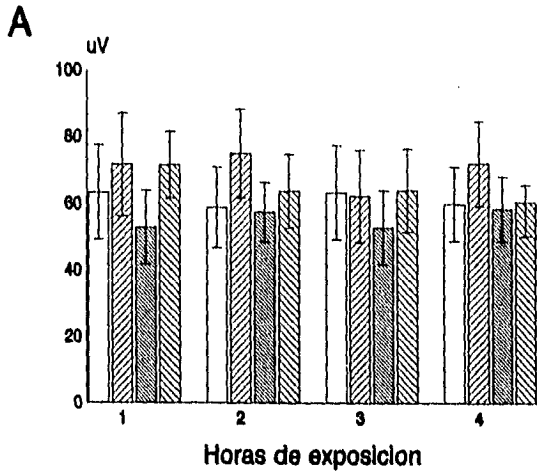


Figura 8. Amplitud de los componentes N1(A) y P2(B), en la Corteza Visual (n=15); las barras muestran la media \pm error estándar, para el grupo control y las 3 condiciones experimentales analizadas durante 4 horas. *p<0.01, **p<0.05.

ANALISIS HISTOLOGICO

Del análisis histológico sólo se confirmó que los electrodos estuvieran en el Cuerpo Geniculado Lateral. En la figura 9 se presenta una fotografía de un corte coronal de una de las ratas, mostrando la huella del electrodo en una preparación histológica típica.



Figura 9. Corte coronal del hemisferio derecho teñido con la técnica de Kluver-Barrera, la cual muestra la trayectoria del electrodo en el Cuerpo Geniculado Lateral. E= Huella del electrodo, H=hipocampo, NH=núcleo habenular medio, CI=Cápsula Interna.

En la figura 10 se muestra un esquema del atlas estereotáxico, ubicando el área del electrodo y las estructuras asociadas al cuerpo geniculado lateral, correspondiendo a las coordenadas estereotáxicas de implantación.

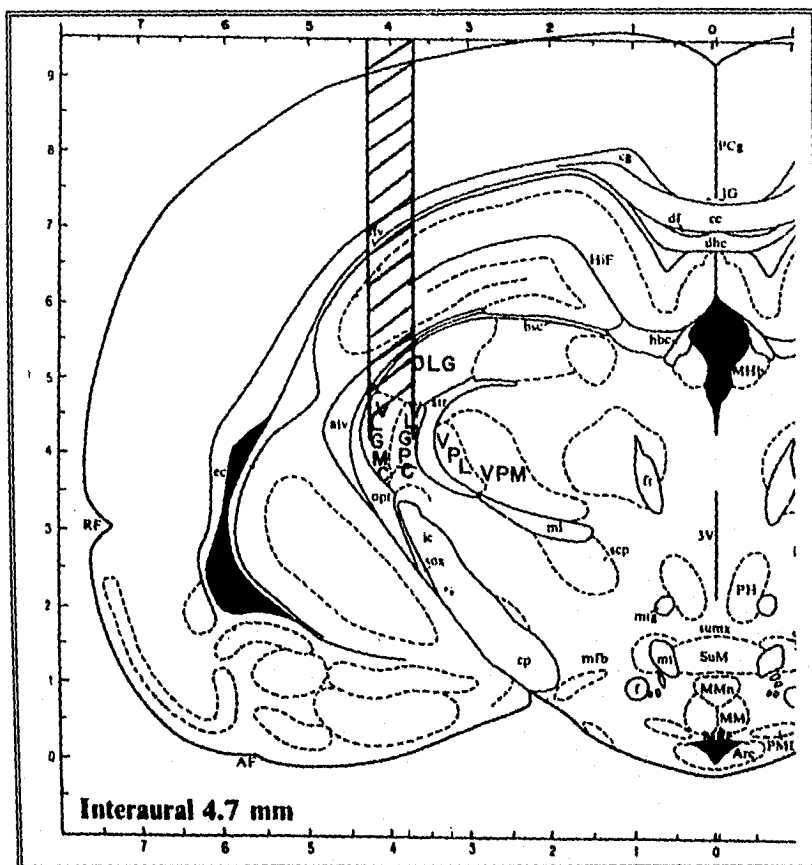


Figura 10. Esquema del atlas estereotáxico Paxinos y Watson, mostrando las estructuras asociadas a la de registro en el Cuerpo Geniculado Lateral. VLGPC= núcleo geniculado ventro lateral (parvocelular), VLGM= núcleo geniculado ventrolateral (magnocelular), DLG= núcleo geniculolaterodorsal, VPL= núcleo lateral talámico ventroposterior, VPM= núcleo medio talámico ventroposterior, IC= cápsula interna, CP= pedúnculo cerebral (basal), HIF= fisura hipocámpal, 3V= tercer ventrículo.

10. DISCUSION

Nuestros resultados muestran alteraciones en la latencia de los tres componentes primarios (P1, N1 y P2) de los potenciales evocados en el Cuerpo Geniculado Lateral y la Corteza Visual, como consecuencia de los efectos que produce el ozono en la vía visual.

Los efectos de tóxicos en el Sistema Nervioso Central provocados por el disulfuro de carbono (Herr y cols., 1992; Sikora y cols., 1990), tricloroetileno (Blain y cols., 1992) y ozono (Bokina y cols., 1976; Xintaras y cols., 1966), han sido evaluados a través de los potenciales evocados, utilizando a la vía visual para cuantificar la susceptibilidad de ésta al ser alterada por cambios en el medio ambiente. Los cambios que se han encontrado para los tres neurotóxicos han sido una disminución de la amplitud y aumento de la latencia dependientes de la concentración y el tiempo de exposición al cual se exponen las ratas. De nuestros resultados se puede ver que todos los componentes (P1, N1 y P2) son alterados en su latencia en el CG y la CV con 3.0 ppm de O₃, sugiriendo que el efecto tóxico del O₃ ocurre a nivel general de la vía visual.

Se sabe que el ozono aumenta la liberación de radicales libres que reaccionan con las proteínas y los ácidos grasos poliinsaturados, alterando la permeabilidad celular de la membrana (Evans, 1993; Victorin, 1992). Se ha descrito una variedad de efectos dañinos de los radicales libres sobre la función neuronal, estos incluyen: incremento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, alteración en la formación de tubulina, inhibición de la respiración mitocondrial y, perturbaciones en la transmisión sináptica y función iónica (Dabrowiecki, 1985). Las últimas alteraciones podrían ser las responsables del retardo sináptico, manifestada por cambios en la latencia de los componentes de los potenciales evocados visuales. Schroeder y cols. (1992), al provocar vacuolación en la vía

óptica con alfa-Vinil GABA administrado durante 14 semanas, encontraron un retraso en los potenciales evocados visuales a partir de la sexta semana, y una recuperación a la tercera semana.

Al haber encontrado alteraciones en las latencias de los componentes de los PEV en ambas estructuras con 1.5 y 3.0 ppm de O₃, se puede decir que el ozono tiene efectos en los procesos de conducción.

Algunos de los trabajos que se han realizado para observar el efecto de éste contaminante en el SNC, han reportado que la exposición al ozono induce modificaciones en los niveles de neurotransmisores; Huitrón y cols. (1994) encontraron una disminución de serotonina a nivel del hipotálamo y un aumento de este mismo neurotransmisor a nivel del puente, estos cambios en las concentraciones del neurotransmisor son correlacionados con cambios en el ciclo sueño-vigilia. Por otro lado Trans y cols. (1972) encontraron cambios en los niveles de las enzimas monoamino oxidasa en la corteza parietal de perros al exponerlos a O₃, enzima que está relacionada con el metabolismo de catecolaminas. En los trabajos que han reportado cambios en las concentraciones de neurotransmisores por exposición a O₃, se sugiere que ésta podría provocar alteraciones en los procesos sinápticos y en la transmisión de la información. Holl y cols. (1992) reportaron que en los potenciales evocados visuales en humanos, se incrementa la latencia, y la amplitud decrece después que se les administra 10-35 mg de galantamina, que es un inhibidor de la acetilcolinesterasa que es utilizado para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Con este trabajo se comprueba que los potenciales evocados son susceptibles a ser modificados, probablemente alterando el metabolismo de los neurotransmisores involucrados en esta vía. Ikeda y cols. (1994) refieren en pacientes con enfermedad de Parkinson una deficiencia de Dopamina junto con un alargamiento en la presentación de la respuesta eléctrica del electrooculograma y potenciales evocados. Se ha reportado también que las concentraciones de los

neurotransmisores son susceptibles a ser alterados por la exposición a O_3 , por lo tanto es posible que la Acetilcolina o el GABA, que están involucrados en la vía visual, podrían estar modificados y ser responsables de las alteraciones encontradas en nuestro trabajo.

Existen reportes en los cuales se ha comprobado que hay diferencias regionales en las concentraciones de hierro, cobre, manganeso, selenio y zinc en el Sistema Nervioso (Prohaska, 1987), estas diferencias en las concentraciones, podrían estar influyendo en la susceptibilidad regional al daño por radicales libres, la corteza cerebral de la rata es una de las regiones que mayor concentración de hierro contiene (102 $\mu\text{g/g}$ peso seco), este metal contribuye en las reacciones de formación de radicales libres. De esta manera, las diferencias encontradas en el componente N1 de la CV a concentraciones de 1.5 ppm de O_3 , la cual no ocurre en el CG, podría deberse a las diferencias en las concentraciones de los metales.

Se ha descrito que el componente P1 para los Potenciales Evocados Corticales son generados por una salva de potenciales de acción provenientes del Cuerpo Geniculado Lateral; El componente N1 es generado por potenciales post-sinápticos excitatorios de la vía aferente, y el componente P2 y otros componentes posteriores, son generados tanto por interacción local, como por interacción con centros subcorticales.

Los mecanismos que producen las oscilaciones y su sincronización in vivo es desconocida. Se han propuesto varios generadores para explicar esto: Primero, el registro intracelular de preparaciones de rebanadas corticales han revelado subpoblaciones de interneuronas inhibitorias y células piramidales, en la cual la oscilación del potencial de membrana está con un rango de frecuencia de 10 a 50 Hz, en virtud de las propiedades intrínsecas de las membranas celulares. Dichas células pudieran disparar una población local dentro de la coordinación a la respuesta oscilatoria. Segundo, la respuesta oscilatoria cortical puede ser reflejo de la actividad rítmica coordinada en aferentes de orígenes tales como la retina y núcleo geniculado lateral, estructuras que se conoce exhiben variedad de grados de

actividad oscilatoria. Tercero, la respuesta oscilatoria pudiera ser generada por redes corticales, células excitatorias que reciben una retroalimentación inhibitoria recurrente (Jagadeesh y cols., 1992). En la literatura se ha reportado que los diferentes componentes del PEV pueden ser modulados de manera independiente (Herr y cols., 1992), con nuestros resultados se vio que no necesariamente tenía que estar alterado el primer componente (P1), para que el componente NI presentara retraso en la CV con 1.5 ppm de O₃.

Al estar evaluando cada 15 días a las ratas antes de aplicarles alguna otra concentración de ozono y no encontrar diferencias significativas con este registro, suponemos que la exposición de ozono en nuestras condiciones no provoca alteraciones crónicas en el Sistema Nervioso Central, uno de los resultados encontrados por nuestro grupo de trabajo, refieren que hay una recuperación en el sueño paradójico a concentraciones de 0.35 y 0.75 ppm de O₃ a las 24 horas siguientes después de estar expuestas a dichas concentraciones (Murillo y cols., 1995), lo cual sugiere que las probables lesiones a las membranas celulares son reversibles.

Nuestros resultados coinciden con los resultados del trabajo de Xintaras y cols. (1966), en el cual ellos encontraron un retardo a la respuesta inducida por la estimulación fótica en la Corteza Visual y en el colículo superior de rata, así como una disminución en la amplitud con exposición de 0.5 a 1 ppm de O₃ durante una hora. Por su parte Bokina y cols. (1976) reportaron que la exposición crónica (45 días) a 0.02 ppm de O₃ provocó disminución en la amplitud y retraso en la respuesta primaria en los componentes de los potenciales evocados visuales de la corteza visual de conejos. Se ha reportado que dependiendo de la concentración a la que se trabaje y del tiempo de exposición al O₃, serán los efectos que se obtengan, aunado a esto, existe la susceptibilidad de las diferentes estructuras, siendo algunas más sensibles al daño por el O₃ o por sus productos de reacción.

La amplitud para los componentes NI y P2 no presentaron diferencias significativas,

para ninguna de las dos estructuras, ni para ninguna de las dosis de O_3 , aunque sí se puede hablar de una tendencia a disminuir en el componente P2 del cuerpo geniculado, dependiendo de la concentración. Se ha reportado en algunos trabajos, en los cuales se manejan tóxicos, que hay una disminución en la amplitud de algún componente de los potenciales evocados (Bokina y cols., 1976; Xintaras y cols., 1966).

11. CONCLUSIONES

- 1.- El ozono afecta la fisiología de la vía visual de las ratas.
- 2.- La latencia de los componentes de los potenciales evocados del Cuerpo Geniculado Lateral y la Corteza Visual, se ven incrementadas con el O_3 , a concentraciones de 1.5 y 3.0 ppm de O_3 .
- 3.- Los cambios significativos en la latencia de los componentes evocados, se encuentran afectados desde la primera hora de exposición a concentraciones de 1.5 y 3.0 ppm de O_3 .
- 4.- Los resultados sugieren que la acción del ozono sobre el SNC podría ejercerse mediante los productos de reacción del ozono, producidos por la peroxidación de los epitelios del aparato respiratorio, que pueden diseminarse hacia el torrente circulatorio.
- 5.- La cantidad mínima a la cual los PEV son modificados, es de 1.5 ppm de O_3 , no sabemos cuánto tiempo más de exposición sea necesario para encontrar cambios significativos con una concentración de 0.75 ppm de O_3 .

La falta de suficientes especialistas y académicos preparados en la problemática de la presencia del ozono en zonas urbanas es evidente, por lo que se requiere de mayores esfuerzos de educación ambiental inmediatos y que sean aplicados a todos los niveles, además de que hace falta más investigación sobre los efectos de este contaminante en la salud, en sus manifestaciones clínicas consecutivas a su inhalación inmediata, que significado funcional y morfológico que tiene la exposición crónica al ozono, y en las

secuelas que deja en la población esta exposición. La exactitud de la forma en que produce daño no está del todo bien determinada, pero se ha postulado que puede ser por: oxidación de puentes disulfuro de las proteínas, oxidación de grasas poliinsaturadas dañando membranas, formación de compuestos tóxicos (ozonidos, peróxidos) y la formación de radicales libres. Estos últimos a su vez, producirán alteraciones a nivel celular principalmente a nivel de membranas celulares (Warheit, 1989).

12. REFERENCIAS

- Arito, H., Uchiyama, I., Arakawa, H. y Yokoyama, E. (1990). Ozone-induced bradycardia and arrhythmia and their relation to sleep-wakefulness in rats. Toxicol. Lett., 52, 169-178.
- Arito, H., Uchiyama, I. y Yokoyama, E. (1992). Acute effects of ozone on EEG activity, sleep-Wakefulness and heart rate in rats. Industrial Health, 30, 23-34.
- Blain, L., Lachapelle, P., y Molotchnikoff, S. (1992). Evoked potentials are modified by long term exposure to trichloroethylene. Neurotoxicology. 13:(1), 203-206.
- Block, F. (1994). Stimulation of N-methyl-D-aspartate receptors in the rat nucleus reticularis thalami suppresses somatosensory evoked potentials. Brain Res., 636, 143-146.
- Bokina, A.I., Eksle, N.D., Semenko, A.D. y Merkur'yeva, R. V. (1976). Investigation of mechanism of action of atmospheric pollutants on central nervous system and comparative evaluation of methods of study. Environ. Health Perspect, 13, 37-42.
- Bravo, H.A., Perrin, F., Sosa, R., Torres, R. (1988). Incremento de la contaminación atmosférica por ozono en la zona metropolitana de la Ciudad de México. Ingeniería Ambiental, 1:(40), 8-14.
- Bravo, H.A., G. Roy-Ocotla R., P. Sánchez A., R. Torres J. (1991) Contaminación atmosférica por ozono en la zona metropolitana de la ciudad de México: evolución histórica y perspectivas. Revista de la coordinación general de estudios de posgrado. 7:23 OMNIA.

- Castillejos, M., Gold, D., Dockery, D., Tosteson, T., Baum, T. y Speizer, G. (1992). Effects of ambient ozone on respiratory function and symptoms in México city schoolchildren. Am. Rev. Respir. Dis., 145, 276-282.
- Chastrese, N., Cespuglio, R. y Jouvet, M. (1990). Proopiomelanocortin (POMC)-derived peptides and sleep in rats. Par 1. Hypnogenic properties of ACTH derivates. Neuropeptides, 15, 61-74.
- Chu, N.S., Squires, K. y Starr, A. (1978). Auditory brain stem potentials in chronic alcohol intoxication and alcohol withdrawal. Arch. Neurol., 35, 596-602.
- Clark, K.W., Posin, C.I., Buckley, R.D. (1978). Biochemical response of squirrel monkeys to ozone. J. Toxicol. Environ. Health., 4, 741-753.
- Cody, D.T.R. y Bickford, R.G. (1965). Cortical audiometry: an objective method of evaluating auditory acuity in man. Proc. Mayo Clin., 40, 273-287.
- Cody, D.T.R., Klas, D.W. y Bickford, R.G. (1967). Cortical audiometry: an objective method of evaluating auditory acuity in awake and sleeping man. Trans. Amer. Acad. Ophthal. Otol., 71, 81-91.
- Creel, D., Dustman R.E. y Beck, E.C. (1974). Intensity of flash illumination and the visually evoked potential of rats, guinea pigs and cats. Vision Res., 14, 725-729.
- Dabrowiecki, Z., Gordon-Majszak, W., Lazarewicz, J. (1985). Effects of lipid peroxidation on neurotransmitters uptake by rat synaptosomes. Pol. J. Pharmacol. Pharm., 37, 325-331.

- Delamonica E, Electroencefalografía, (12a ed.). Buenos Aires. El Ateneo. pp 599-624.
- Evans, P. H. (1993) Free radicals in brain metabolism and pathology. British Medical Bulletin, 49(3), 577-587.
- Floyd, R.a., Zaleska, M.N. y Harmon, J. Possible involvement of iron and oxygen free radicals in aspects of aging in brain. En: Armstrong, D., Sohal, R.S., Cutler, R.G. & Slater T.F. (Eds). Free radicals in human biology, aging and disease. Raven Press, New York. 1984, 143-161.
- Folinsbee, J.L. (1992). Human health effects of air pollution. Environ. Health Perspectives, 100, 45-46.
- Freeman, B.A. y Crapo, J.D. (1982). Biology of disease: Free radicals and tissue injury. Lab. Investigation, 47, 412-426.
- Goldstein, B. D., Pearson, B. y Lodi, Ch. (1968). The effect of ozone on mouse blood in vivo. Arch. Environ Health, 16, 648-650.
- Gouras, P. (1985). Color vision. En E.R. Kandel y J.H. Schwartz, (Ed), Principles of neural Science (2nd ed.), New York: Elsevier. 366-383.
- Gross, E.C., Stevens, M.A., Hatch, G.E., Jaskot, R.H., Selgrade, M.J.K., Stead, A.G., Costa, D.L. y Graham, J.A. (1988). The impact of a 12-month exposure to a diurnal pattern of ozone on pulmonary function, antioxidant biochemistry and immunology. In: Dutch International Symposium.

- Gross, K.B., White, H.J. y Sargent, N. E. (1991). The effect of ozone inhalation on metabolic functioning of vascular endothelium and on ventilatory function. Tox. Applied Pharmacol., 109, 336-351.
- Guevara, M.A., Jiménez, J., Velázquez, D., Ostrosky, F., Pérez, M., Rodríguez Y., García de la Cadena, C. (1993). Un sistema para la adquisición y el análisis automatizado de potenciales evocados en humanos. Revista Mexicana de Psicología, 10(2), 189-194.
- Günther, T. Höllriegl, V. y Vorman, J. (1993). Perinatal development of iron and antioxidant defence systems. J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis., 7, 47-52.
- Hackney, J.D., Linn, W.S., Buckley, R.D., Pedersen, E.E., Karuza, S.K., Law, D.C. y Fisher, D.A. (1975). Experimental studies on human health effects of air pollutants. I. Design and considerations. Arch. Environ. Health, 30, 373-378.
- Hackney, J.D., Linn, W.S., Karuza, S.K., Buckley, R.D., Bates, D.V., HYZUCHA, M., Pengelly, L.D. y Silverman, F. (1977). Efectos of ozone exposure in Canadians and Southern Californians. Arch. Environ. Health, 32, 110-116.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem. J., 219, 1-14.
- Halliwell, B. (1989). Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. Acta. Neurol. Scand., 126, 23-33.
- Harman, D., (1983). Free radical theory of aging: consequences of mitochondrial aging. Age, 6, 86-94.

- Haro, R. y Paz, C. (1993), Effects of ozone exposure during pregnancy on ontogeny of sleep in rats. Neuroscience Letters, 164, 67-70.
- Herr, D.W., Boyes, W.K., y Dyer, R.S. (1992). Alterations in rat flash and pattern reversal evoked potentials after acute or repeated administration of carbon disulfide (CS₂). Fundam. Appl. Toxicol., 18(3), 328-42.
- Holl, G., Straschill, M., Thomsen, T., Fischer, J.P. y Kewitz, H. (1992). Effect of the cholinesterase inhibiting substance galanthamine on human EEG and visual evoked potentials. Electroencephalography and clinical Neurophysiology, 82, 445-452.
- Huitrón-Reséndiz, S., Custodio, V. Escalante, C., González, R. y Paz, C. (1993). Alteraciones en las concentraciones cerebrales de monoaminas de ratas expuestas a ozono. Rev. Int. Contam. Ambient., 9, 159.
- Huitrón-Reséndiz, S., Custodio-Ramírez, V. Escalante-Membrillo, C., González-Piña, R. y Paz, C. (1994). Sleep alterations and brain regional changes of serotonin and its metabolite in rats exposed to ozone. Neuroscience Letters, 177, 119-122.
- Ikeda, H., Head, G.M., y Ellis, C.J.K. (1994). Electrophysiological signs of retinal dopamine deficiency in recently diagnosed Parkinson's disease and a follow up study. Vision Research, 34(19), 2629-2638.
- Jackson, G.R., Apfel, L., Werrbach-Perez, K., y Perez-Polo, J.R. (1990). Role of nerve growth factor in oxidant-antioxidant balance and neuronal injury. I. Stimulation of hydrogen peroxide resistance. J. Neurosci. Res., 25, 360-368.

- Jagadeesh, B., Gray, M.C. y Ferster, D. (1992). Visually evoked oscillations of membrane potential in cells of cat visual cortex. Science, 257(24), 552-554.
- Jouvet, M., (1969). Biogenic amines and the states of sleep. Science, 163, 32-41.
- Jouvet, M. (1984). Neuromediateurs et facteurs hypnogenes. Rev. Neurol., 140, 389-400
- Kennedy, C.H., Hatch, G.E., Slade, R. y Mason, R.P. (1992) Application of the EPR spintrapping technique to the detection of radicals produced in vivo during inhalation exposure of rats to ozone. Toxicol. Appl. Pharmacol., 114, 41-46.
- Kilburn, K.H., Warshaw, R.H. y Thornton, J.C. (1992). Expiratory flows decreased in Los Angeles Children from 1984 to 1987: Is this evidence of effects of air pollution?. Environmental Res., 59, 150-158.
- Kinney, P.L., Ware, J.H., Spengler, J.D., Dockery, D.W., Speizer, F.E. y Ferris, B.G. (1989). Short-term pulmonary function change in association with ozone levels. Am. Rev. Respir. Dis., 139, 56-61.
- Lategola, M.T., Melton, C.E. y Higgins, E. (1980). Effects of ozone on symptoms and cardiopulmonary function on a flight attendant surrogate population. Aviat. Space Environ. Med., 51, 237-246.
- Legorreta, J. y Flores, A. (1992). La contaminación atmosférica en México. Sus causas y efectos en la salud. Comisión Nacional de Derechos Humanos. 61-97.
- Leonard, C.S. y Llinas, R.R. (1990). Serotonin (5-HT) inhibits mesopontine cholinergic neurons in vitro. Soc. Neurosc. Abst., 16, 1233.

- Liu, J. y Mori, A. (1992). Antioxidant and free radical scavenging activities of gastrodia Elata Bl. and uncaria Rhynchophyllia (MIQ) Jacks. Neuropharmacology, 31(12), 1287-1298.
- Livigstone, M.S. y Hubel, D. (1984). Anatomy and physiology of a color system in the primate visual cortex. Journal of Neuroscience, 4, 309-356.
- McDonald, W.I. (1977). Pathophysiology of conduction in central nerve fibers. Cap. 25, en Visual Evoked Potentials: New Developments. Ed. por J.E. Desmedt. Clarendon Press. Oxford.
- Mizumo, Y., y Ohta, K. (1986). Regional distribution of thiobarbituric acid-reactive products, activities of enzymes regulating the metabolism of oxygen free radicals, and some of the related enzymes in adult and aged rat brains. J. Neurochem., 46, 1344-1352.
- Moore, G.S., Calabrese, E.J., y Grinberg-Funes, R.A. (1980). The C57L/J mouse strain as a model for extrapulmonary effects of ozone exposure. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 25, 578-585.
- Murillo-Rodríguez, E., Huitrón-Reséndiz, S. y Paz, C. (1995). Recuperation in the phase of paradoxical sleep in adult rats exposed to ozone. Sleep Research, 24(A), 48.
- Mustafa, M.G. (1990). Biochemical basis of ozone toxicity. Free Radical Biol. Med., 9, 245-265.

- Paxinos, G. y Watson, Ch. (1982). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press. New York.
- Paz, C. y Bazán-Perkins, B. (1992). Sleep-wake disorganization in cats exposed to ozone. Neurosci. Lett., **140**, 270-272.
- Pérez-Cobo, J.C., López de armentia, M., Sánchez-Suero, S., y Pérez-Arroyo, M., (1994). Visual Evoked Potentials in Response to Flashes in the Cat Cortex. Rev. Esp. Fisiol., **50** (3), 183-190.
- Pinkerton, K.E., Dodge, D.E., Cederdahl-Demmler, J., Wong, V.J., Peake, J., Haselton, C. J., Mellick, P.W., Singh, G. y Plopper, Ch.G. (1993). Differentiated bronchiolar epithelium in alveolar ducts of rats exposed to ozone for 20 months. American Journal of Pathology, **142**, 947-956.
- Prohaska, J.R. (1987). Functions of trace elements in brain metabolism. Physiological Reviews, **67**, 858-900.
- Pryor, W.A. (1991). Can vitamin E protect humans against the pathological effects of ozone smog?. Am. J. Clin. Nutr., **53**, 701-722.
- Pryor, W.A. (1992). How far does ozone penetrate into the pulmonary air/tissue boundary before it reacts?. Free Rad. Biol. Med., **12**, 83-88.
- Raps, S.P, Lai, J.C.K, Hertz, L., y Cooper, A.J.L. (1989). Glutathione is present in high concentrations in cultured astrocytes but no in cultured neurons. Brain. Res., **493**, 398-401.

- Ravindranath, V., Shivakumar B. R., y Anandatheerthavarada, H. K. (1989). Low glutathione levels in brain regions of aged rats. Neurosci. Lett., 101, 187-190.
- Roehn, J.N. Hadley, J.C. y Menzel, D.B. (1972). The influence of vitamin E on the lung fatty acids of rats exposed to ozone. Arch. Environ. Health, 24, 273.
- Rosenzweig, M.R., y Leiman, A.I. (1992). Psicología Fisiológica. (2a. ed.). México. McGraw-Hill 342-373.
- Sato, S., Sugimoto, S., y Chiba, S. (1982). An electrophysiological method for detecting visual toxicity in unrestrained rats. Japan. J. Pharmacol., 32, 489-497.
- Schnapf, J.L., y Baylor, D.A. (1987). How photoreceptor cells respond to light. Scientific American, 256, 40-47.
- Schroeder, C.E., Gibson, P., Yarrington, J., y heydorn, W.E.. (1992). Effects of High-Dose Alpa-Vinyl GABA (Vigabatrin) administration on Visual and Somatosensory Evoked Potentials in Dogs. Epilepsia, 33, 13-25.
- Schwartz, J., Spix, C., Wichmann, H.E. y Malin, E. (1991). Air pollution and acute respiratory illness in five German communities. Environmental. Res., 56, 1-14.
- Sherman, S.M. (1985). Functional organization of the W, X, and Y-Cell pathways in The Cat: a review and hipothesis. In J.M. Sprague & A. N. Epstein (Eds.), Progress in psychobiology and physiological psychology. 11, 223-314.

ESTRADA
CAMPUS LA PLATERA

- Shouse, M.N. y Siegel, J.M. (1992). Pontine regulation of REM sleep components in cats: integrity of the pedunculopontine tegmentum (PPT) is important for phasic events but unnecessary for atonia during REM sleep. Brain. Res., 571, 50-63.
- Sikora, A., Langaver-Lewowicka, H. y Kazibutowskiz. (1990). Visually evoked potentials and simple reaction times to visual stimuli in chronic disulphide intoxication. Pol. J Occup. Med., 3(3), 293-299.
- Snyder, S. H. (1992). Nitric oxide: First in new class of neurotransmitters?. Science, 257, 494-496.
- Spektor, D.A., Lippmann, M., Thurston, G.D. Liroy, P.J., Stecko, J., O'connor, G., Garshick, E., Speizer, E., y Hayes, C. (1988). Effects of ambient ozone on respiratory function in healthy adults exercising outdoors. Am. Rev. Respir. Dis., 138, 821-828.
- Squires, K., Squires, K.C. y Hillyard, S.A. (1975). Two varieties of long-latency positive waves evoked by unpredictable auditory stimuli in man. Electroenceph clin Neurophysiol, 38, 387-401.
- Squires, K.C., Chu, N.S. y Starr, A. (1978). Acute effects of alcohol on auditory brainstem potentials in humans. Science, 201, 174-176.
- Starr, A. y Achor, J. (1975). auditory brain stem responses in neurological diseases. Arch Neurol, 32, 761-768.
- Steinberg, J.J., Gleeson, J.L. y Gil, D. (1990). The pathobiology of ozone-induced damage. Arch. Environ. Health, 45, 80-87.

- Stockard, J.S. y Rossiter, V.S. (1977). Clinical and pathological correlates of brain stem auditory response abnormalities. Neurology, 27, 316-325.
- Sutton, S., Tueting, P. y Zubin, J. (1967). Information delivery and the sensory evoked potential. Science, 155, 1436-1439.
- Suzuki, E., Takahashi, Y., Aida, S., Kimura, Y., Ito, Y., y Miura, T. (1992). Alteration in surface structure of clara cells and pulmonary cytochrome P-450b level in rats exposed to ozone. Toxicol., 71, 223-232.
- Tepper, J.L., Weiss, B. y Cox, Ch. (1982). Microanalysis of ozone depression of motoractivity. Toxicol. Appl. Pharmacol., 64, 317-326.
- Tepper, J.L., Weiss, B. y Wood, R. W. (1985). Alterations in behavior produced by inhaled ozone or ammonia. Fundam. Appl. Toxicol., 5, 1110-1118.
- Tepper, J.S., Wiester, M.J., Weber, M.F. y Ménache, M.G. (1990). Measurement of cardiopulmonary response in awake rats during acute exposure to near-ambient concentrations of ozone. J. Applied Toxicol., 10, 7-15.
- Thoru, Y. (1988). The anatomic and physiologic bases of median nerve Somatosensory Evoked Potentials. Neurologic Clinics, 6(4), 705-733.
- Trams, E.G., Lauter, C.J., Brown, E. A. B. y Young, O. (1972). Cerebral cortical metabolism after chronic exposure to ozone. Arch. Environ. Health, 24, 153-159.

- USEPA (1989). Review of the national ambient air quality standards for ozone: assessment of scientific and technical information. OAQPS staff paper. Research Triangle Park, NC: Office of Quality Planning and Standards; EPA report no. EPA-450/2-92/001. Available from NTIS, Springfield, VA; PB92-190446.
- Warheit, D.B. (1989). Interspecies comparisons of lung responses to inhaled particles and gases. Crit. Rev Toxicol., 20, 1-29.
- Weiss, B., Ferin, J., Merigan, W., Stern, S. y Cox, CH. (1981). Modification of rat operant behavior by ozone exposure. Toxicol. Appl. Pharmacol., 58, 244-251.
- Woolsey, C.N. (1981). Cortical sensory organization: Multiple visual areas. Crescent Manor, N.J.: Humana.
- Wright, E.S., Dziedzic, D., y Wheeler, C.S. (1990). Cellular, biochemical and functional effects of ozone: New research and perspectives on ozone health effects. Toxicol Letts., 51, 125-145.
- Victorin, K. (1992). Review of the genotoxicity of ozono. Mutation Research., 277, 221-238.
- Xintaras, C., Johnson, B.L. Ulrich, C.E., Terrill, R.E. y Sobocki, M.F. (1966). Application of the evoked responses technique in air pollution toxicology. Toxicol. Appl. Pharmacol., 8, 77-87.
- Zindenberg-Cherr, S., Han, B. y Dubick, M.A. (1991). Influence of dietary-induced copper and manganese deficiency on ozone-induced changes in lung and liver antioxidant systems. Toxicology Letters., 57, 81-90.

13. ABREVIATURAS UTILIZADAS

COMPUESTOS ORGANICOS REACTIVOS	(COR)
CORTEZA VISUAL	(CV)
CUERPO GENICULADO LATERAL	(CG)
DISULFURO DE CARBONO	(CS ₂)
LITROS POR MINUTO	(lpm)
METABOLITO DEL OXIGENO REACTIVOS	(ROM)
NITRATO DE PEROXI-ACETILO	(PAN)
OZONO	(O ₃)
PARTES POR MILLON	(ppm)
PEROXIDASA DE GLUTATION	(GSH)
PEROXIDO DE HIDROGENO	(H ₂ O ₂)
PRODUCTOS DE REACCION DEL OXIGENO	(PRO)
POTENCIALES EVOCADOS	(PE)
POTENCIALES EVOCADOS VISUALES	(PEV)
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	(SNC)
SUPEROXIDO DISMUTASA	(SOD)