

259
2 es.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE PSICOLOGIA

**“CONDUCTA Y SISTEMA LIMBICO EN RATAS
RECIEN NACIDAS DE MADRES CRONICAMENTE
INTOXICADAS CON SALES DE PLOMO.
ESTUDIO EXPERIMENTAL”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADO EN PSICOLOGIA
P R E S E N T A
ADRIANA SILVA RODRIGUEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. ALFONSO ESCOBAR IZQUIERDO



FACULTAD
DE PSICOLOGIA

MEXICO, D. F.

AGOSTO DE 1998

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

264194



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.

*a mi mamá, Martha Rodríguez,
por su apoyo incondicional.*

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alfonso Escobar Izquierdo, investigador emérito del Departamento de Fisiología del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, por su valiosa ayuda y asesoría académica para la realización de este trabajo.

Al señor Apolinar Olvera, técnico del Departamento de Fisiología del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, por su ayuda técnica para el manejo de los animales y las tinciones histológicas de Golgi.

Al señor Juan Padrón, laboratorista del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Manuel Velasco Suárez, SSA, por su ayuda técnica para la realización de las tinciones histológicas.

INDICE

Indice	2
Resumen	3
Introducción	4
Plomo: características físico-químicas	6
Plomo y contaminación ambiental	7
Intoxicación por plomo	8
Anatomía del sistema nervioso	10
Histogénesis cerebral	10
Estructura de la corteza cerebral	13
Sistema límbico	14
Formación hipocámpica	15
Corteza cerebelosa	16
Efecto del plomo sobre el sistema nervioso	19
Efectos conductuales	19
Efectos estructurales	20
Efectos neuroquímicos	23
Mecanismo de la neurotoxicidad por plomo	24
Mecanismo neuroontogénico	24
Mecanismo neurofarmacológico	26
El problema de la intoxicación por plomo	27
Método	29
Resultados	34
Discusión	48
Conclusiones	55
Perspectivas del estudio	56
Referencias	57

RESUMEN

Los niveles de plomo en el ambiente de las ciudades densamente pobladas constituyen un serio problema de salud pública. El plomo es un metal tóxico que afecta el desarrollo y crecimiento del sistema nervioso central (SNC) en los organismos jóvenes y altera el funcionamiento del cerebro en los organismos adultos. Se sabe que los niños expuestos crónicamente al efecto tóxico de plomo desarrollan alteraciones de conducta y presentan una disminución de su capacidad de aprendizaje, por lo que se planteó el estudio en un modelo experimental en ratas para examinar el efecto de la intoxicación crónica por plomo sobre el desarrollo del SNC y en especial de las estructuras límbicas responsables de la organización de la conducta y del aprendizaje; en el modelo se emplearon técnicas conductuales e histológicas.

Se utilizaron 20 ratas Wistar recién nacidas de ambos sexos cuyas madres ingirieron agua con acetato de plomo al 1% *ad libitum* durante y después del embarazo, 23 ratas no intoxicadas fueron utilizadas como grupo testigo. Las ratas recién nacidas fueron entrenadas para salir de un recipiente con agua (80x51x24) y para caminar por una cuerda suspendida en el aire (80 cm de largo). Después fueron sacrificadas y perfundidas. Con su tejido nervioso se realizaron tinciones de hematoxilina-eosina, Nissl, Klüver-Barrera, Bodian y Golgi.

Las ratas recién nacidas intoxicadas en útero con plomo mostraron deficiencias significativas en el tiempo empleado para salir del recipiente con agua (prueba t de student $p < 0.001$) y no mostraron diferencias significativas en el tiempo empleado en caminar por la cuerda (prueba t de student $p < 0.05$) con respecto al grupo testigo. En los cortes histológicos se observaron alteraciones estructurales en los animales expuestos a este metal tóxico en cuanto al crecimiento general del SNC y la sinaptogénesis neuronal. Con base en estos resultados se concluye que el plomo por su capacidad para pasar libremente las estructuras placentarias de los mamíferos llega al feto lo cual puede alterar el crecimiento y desarrollo normal del encéfalo y bloquear y/o alterar los mecanismos que intervienen en la ontogenia lo que trae como consecuencia alteraciones en la estructura del cerebro y deficiencias en el aprendizaje y la conducta de las ratas nacidas de madres intoxicadas con plomo.

INTRODUCCION

En las grandes ciudades como resultado del desarrollo y agudización de múltiples desequilibrios de carácter económico, urbano, energético, social, educativo y ambiental se presenta un creciente deterioro del aire. La contaminación ambiental provoca diferentes alteraciones en los organismos vegetales y animales, así como en materiales y compuestos atmosféricos. Algunas posibilidades de acción para proteger el ambiente son la racionalización del consumo energético, cambio y/o mejoramiento de combustibles, uso de tecnologías de control de emisiones o combustión y reubicación de industrias; pero, debido a que estas medidas tienen implicaciones económicas, urbanas, distributivas y políticas, no es fácil ponerlas en práctica, por lo cual día con día el problema de la contaminación ambiental aumenta y genera consigo graves problemas de salud pública. En la atmósfera de la zona metropolitana de la ciudad de México se encuentra presente una amplia variedad de sustancias. Entre las más importantes para evaluar la calidad del aire son: partículas suspendidas totales, plomo, monóxido de carbono, óxidos de azufre, óxidos de nitrógeno, hidrocarburos, ozono y otros oxidantes fotoquímicos (Quadri y Sánchez, 1992).

En los seis primeros casos se trata de sustancias emitidas directamente por la combustión y otros procedimientos industriales, así como por la erosión, los incendios y otros fenómenos naturales, por ello se les conoce como contaminantes primarios. Por otro lado existen los contaminantes secundarios, como el ozono, que se producen en la atmósfera como resultado de reacciones fotoquímicas entre contaminantes primarios. Las sustancias emitidas por estas fuentes se dispersan en el aire, en donde pueden interactuar químicamente entre sí, con los componentes naturales y con los materiales de la superficie. A través de estos procesos, determinados por la naturaleza química de los contaminantes y por la influencia de condiciones meteorológicas, tales como la intensidad de la radiación solar, la atmósfera puede depurarse, pero también dar origen a contaminantes secundarios o de segunda generación (Quadri y Sánchez, 1992).

Dado que el problema de la contaminación ambiental es muy complejo, y es causado por muy diversos contaminantes, se han hecho estudios específicos para tratar de conocer los estragos ambientales y de salud que produce cada uno de ellos.

Los efectos de la contaminación del aire pueden variar desde la simple irritación transitoria hasta enfermedades agudas o incluso la muerte, en función de la

magnitud de los niveles de concentración y de los períodos de exposición de la población afectada. Básicamente se usan dos enfoques en el estudio de los efectos sobre la salud de los contaminantes atmosféricos: estudios experimentales (toxicológicos) con seres humanos y animales, y estudios epidemiológicos, basados en los efectos medibles en la salud de grupos expuestos naturalmente a determinados contaminantes. La contaminación del aire y sus efectos sobre la salud son funciones extremadamente complejas. La muerte y la enfermedad representan solo el extremo límite de toda una gama de respuestas. Esto, aunado al hecho de que es difícil de estimar con precisión la duración y la variabilidad de los niveles de concentración de los contaminantes atmosféricos a los que se encuentra expuesta la población, determina una incertidumbre significativa en la identificación y cuantificación de relaciones causa-efecto.

La contaminación del aire tiene distintos grados de toxicidad en el ser humano, los animales y vegetales, también puede ser agresiva a los materiales, edificaciones y monumentos (Lacy, 1993).

En el siguiente cuadro se presentan los contaminantes atmosféricos de acuerdo con un factor de tolerancia basado en las normas y criterios de calidad del aire vigentes en México. Estos factores, expresados en microgramos por metro cúbico para un promedio de 24 horas, representan la dosis de contaminación debajo de la cual puede garantizarse la protección de la salud con un margen adecuado de seguridad (Lacy, 1993).

Factores de Tolerancia para los Diferentes Contaminantes Atmosféricos*

Contaminante	Factor de tolerancia
Plomo	4
Ozono	74
Partículas menores a 10 micrómetros	150
Bióxido de azufre	340
Bióxido de nitrógeno	800
Monóxido de carbono	11300

* Babcock (1987), Nagda y Babcock (1976) en: Lacy (1993).

Con base en este análisis el más tóxico al ser humano es el plomo y el más tolerable el monóxido de carbono. Estas cifras son relativas ya que dependen de

las concentraciones a las que se está expuesto, el lugar, la hora del día, la temperatura, el clima y las características particulares de cada individuo.

La contaminación por plomo y sus repercusiones en la salud han sido estudiadas a nivel toxicológico y epidemiológico, tanto en animales como en seres humanos y aunque es la neurotoxina sobre la que mayor investigación se ha realizado aún no se conocen los mecanismos precisos de su acción tóxica y no se ha desarrollado una hipótesis que explique e integre todas las inconsistencias de los datos obtenidos en las investigaciones realizadas hasta el momento tanto *in vitro* como *in vivo*.

PLOMO: CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS

El plomo es un elemento químico de número atómico 82, cuyo símbolo es Pb (Plumbum). Es un metal gris azulado y muy brillante (pero su brillo se empaña rápidamente, al formarse una película superficial de carbonato de plomo con el agua), cuyas principales constantes físicas son las siguientes: densidad 11,34 (es el más denso de los metales ordinarios); temperatura de fusión 327,4 °C.; temperatura de ebullición 1750 ° C.; masa atómica 207,19; grado de oxidación 4+, 2+; se disuelve en ácido nítrico diluido.

El plomo es maleable en frío y dúctil, aunque poco tenaz, y tan blando que puede ser rayado con la uña y cortado con un cuchillo. Es muy resistente a los agentes químicos. Los alquimistas lo representaron por el símbolo de Saturno.

Este metal no existe en la naturaleza de forma pura, pero sí combinado con numerosos compuestos que forman sulfuros y frecuentemente se haya aleado con plata. En estado natural forma los minerales anglesita, cerusita y galena.

El plomo, por formar parte de numerosos compuestos orgánicos e inorgánicos, tiene muchas aplicaciones industriales, se utiliza en cámaras de plomo para la obtención de ácido sulfúrico, en acumuladores, fabricación de baterías, insecticidas, soldadura, tubos para conducción de agua, revestimiento de cables eléctricos, obtención de pigmentos, lacas y barnices, antidetonantes para gasolina, techados de plomo, depósitos para la industria química y aleaciones especiales (Thienes y Haley, 1964).

PLOMO Y CONTAMINACION AMBIENTAL

En el aire el plomo se encuentra en estado sólido y forma parte de las partículas suspendidas, además de ser el metal pesado más generalizado en la atmósfera. Como contaminante ambiental proviene principalmente de la gasolina que contiene aditivos de plomo. El uso del tetraetilo de plomo (TEP) como aditivo de la gasolina tiene la finalidad de lograr una combustión controlada y regula la calidad antidetonante. En México, la cantidad de TEP que se agrega a las gasolinas para su consumo en el país fluctúa entre 0.5 y 1.0 ml/gal. Así, su importancia como contaminante radica en el uso excesivo e indiscriminado de los vehículos que utilizan gasolina para su funcionamiento (Quadri y Sánchez, 1992; Lacy, 1993).

En la ciudad de México la aportación más importante de plomo a la atmósfera corresponde a los automóviles privados y representa 80% del total. Los vehículos de servicio público a gasolina aportan 13% y los camiones de carga a gasolina 7%. La contribución de la industria no ha sido determinada. Las concentraciones de plomo ambiental en la ciudad de México aumentan en los meses de invierno (noviembre-febrero) con un promedio mensual arriba de $1500 \mu\text{g}/\text{m}^3$, valor límite aceptado por las normas de varios países. Durante los meses de verano (junio-octubre) las concentraciones promedio tienden a reducirse hasta una tercera parte de las observadas en los períodos más críticos (Quadri y Sánchez, 1992).

El plomo que originan los automóviles se asocia exclusivamente con partículas dentro del rango de lo respirable, esto es, con un tamaño predominante de partículas de un micrómetro de diámetro o menos, las cuales pueden alcanzar más fácilmente la porción inferior del pulmón, los alvéolos, en donde el plomo se encuentra disponible para intercambio dentro de la corriente sanguínea. Se ha mostrado en forma experimental que al menos 20% del plomo inhalado se puede absorber. El plomo inhalado es una contribución adicional a la carga de plomo total del cuerpo, la cual en forma predominante procede de la ingestión (Strauss y Mainwaring, 1990). El plomo se encuentra no solo en forma volátil, como partículas suspendidas, sino también en el agua potable contaminada por este metal y en los alimentos regados o cultivados en tierra contaminada que incorporan plomo dentro de sus células (Mateu, 1994).

INTOXICACION POR PLOMO

El plomo constituye un riesgo para la salud y los efectos de su toxicidad dependen de diversos factores como son la edad del organismo al estar en contacto con el tóxico, el tiempo de exposición y la dosis. La absorción del plomo es principalmente por inhalación e ingestión (Molina et al., 1979). El plomo que llega a la sangre se combina con la hemoglobina de los hematíes y de ahí pasa a los huesos, así como al hígado, riñón, páncreas y cerebro (Sosa, Rodríguez y Oscos, 1997). La intoxicación aguda por plomo es rara, se observa con mayor frecuencia en los niños por ingestión de compuestos inorgánicos insolubles a base de cloratos o sulfatos y se caracteriza por náuseas, vómitos, sabor metálico, cólicos abdominales, heces oscuras y colapso circulatorio. Posteriormente pueden presentarse crisis hemolíticas y trastornos cerebrales y renales. (Thienes y Haley, 1964).

La intoxicación crónica por plomo, conocida como saturnismo, se caracteriza por los siguientes signos y síntomas (Buzzo y Soria, 1960; Mateu, 1994; Fielding y Russo, 1977):

Las alteraciones gastrointestinales, que son las primeras en presentarse, se manifiestan como anorexia, vómitos pertinaces, sabor metálico, aumento de la salivación, constipación y cólicos abdominales (cólico saturnino), rigidez de la pared abdominal, fiebre y palidez. Las alteraciones hematológicas muestran anemia hipocrómica (en la que el hierro sérico puede estar aumentado) acompañada de fenómenos hemolíticos, punteado basófilo de los eritrocitos y presencia de eritroblastos. Las alteraciones genitourinarias son nocturia, albiminuria y hematuria, aumento de bilirrubinuria. Los trastornos neuromusculares se manifiestan por adormecimiento y hormigueo de las extremidades con perturbaciones sensoriales asociadas; debilidad de los extensores de la muñeca y tobillos. También se ha descrito parálisis braquial, pérdida del tono muscular, temblor y reflejos tendinosos profundos aumentados. Las contracciones y dolores musculares, artalgia y atrofia muscular, pueden ser otras de las manifestaciones de la intoxicación por plomo. Los trastornos neurológicos (SNC) que se presentan son perturbaciones visuales, dolor de cabeza, vértigo, nerviosismo o depresión, insomnio, confusión mental y delirio. Las alteraciones de orden general son aparición del ribete de Burton (línea gingival oscura en los bordes dentarios) por depósito de sulfato de plomo, pérdida de peso y palidez, así como insuficiencia

renal crónica (asociada a gota articular) y grados moderados de hepatitis tóxica aguda.

Todas estas alteraciones se presentan siempre en plumbemias superiores a 50 mg/dl en el niño y a 80 mg/dl en adultos.

La encefalopatía saturnina, rara en el adulto, se caracteriza por grave alteración del nivel de conciencia, estado convulsivo, ataxia, hipertensión intracranial, demencia aguda (alteraciones del comportamiento, memoria, etc). Se aprecia a plumbemias superiores a 100 mg/dl en el niño y superiores a 150 mg/dl en el adulto (Buzzo y Soria, 1960). Esto es debido a que los organismos jóvenes son más vulnerables al plomo. En los organismos jóvenes son más altas las concentraciones de plomo en la sangre y en los tejidos debido a la absorción gastrointestinal pues se ha demostrado que los niños absorben más plomo a través del intestino; estos datos se han corroborado con estudios en roedores inmaduros. Los altos niveles de Pb en la sangre incrementan las concentraciones de este metal en el cerebro el cual no es fácilmente removido (Fielding y Russo, 1977; Mykkanen, Dickerson y Lancaster, 1979).

El plomo pasa libremente las estructuras placentarias de los mamíferos y llega al feto pudiendo originar aborto, prematuridad, muerte intrauterina y retardo en el crecimiento fetal y postnatal, además de que existe posibilidad de alteraciones cromosómicas y malformaciones congénitas tales como hemangiomas y linfangiomas, hidrocele, anomalías menores de la piel y testículos no descendidos (Hilderbrand et al., 1973; Needleman et al., 1984; Lögdberg et al. 1988; Siles, 1990).

La exposición al plomo industrial está asociada con un incremento en la incidencia de infertilidad, ya que este tóxico afecta al gameto masculino. Un aumento en el número de alteraciones cromosómicas, anomalías en el número, vigor y características morfológicas del esperma, han sido demostradas tanto en animales experimentales como en trabajadores expuestos a plomo (Varma, Joshi y Adenemi, 1974; Needleman et al., 1984; Rajah y Ahuja, 1996). Además estudios en animales han mostrado que el plomo retarda la madurez sexual en ambos sexos (Yu et al., 1996).

El plomo es uno de los muchos factores que pueden alterar el desarrollo normal del encéfalo al entrar en contacto con el feto y bloquear o alterar los mecanismos que intervienen en la ontogenia, lo cual puede traer como consecuencia cambios neuroquímicos, alteraciones en la estructura del cerebro y déficits en el aprendizaje y conducta de los organismos.

ANATOMIA DEL SISTEMA NERVIOSO

El cerebro de los mamíferos está formado por dos hemisferios que embriológicamente derivan del ectodermo. Durante el desarrollo ocurren procesos que se realizan dentro de una secuencia espacial y temporal precisa para conformar el sistema nervioso adulto. Dichos procesos dependen de la información genética y de la acción del medio ambiente.

HISTOGENESIS CEREBRAL

Existen cuatro mecanismos celulares que subyacen el desarrollo del sistema nervioso durante la vida fetal y embriológica: la proliferación celular, la migración celular, la diferenciación celular y la muerte celular (Rosenzweig y Leiman, 1992).

PROLIFERACIÓN CELULAR

La producción de células nerviosas se denomina proliferación celular. Las células nerviosas tienen su inicio como una simple capa celular a lo largo de la superficie interna del tubo neural, que constituye una zona proliferativa cerca de la superficie ventricular llamada capa endimaria o zona ventricular. Cada célula se divide por medio de mitosis dando lugar a células hijas, las cuales a su vez también se dividen. Todas las neuronas y las células gliales se derivan de células que se originan en la capa endimaria. La formación de neuronas lleva una secuencia ordenada, primero se originan las neuronas grandes, luego las de tamaño medio y por último las pequeñas. Además existe una tendencia de que las células gliales se originen después de las neuronas, sin embargo intervienen otros factores como son el tipo de célula del que se trate y su estatus filogenético. En la mayoría de los mamíferos el proceso de formación de las células neurales en la capa endimaria continúa hasta el nacimiento, y en algunos casos se prolonga hasta después de éste (Rakic, 1972; Jacobson, 1978; Rosenzweig y Leiman, 1992).

MIGRACIÓN CELULAR

Después de la división mitótica en las zonas ventricular y subventricular, las células se desplazan hacia la placa cortical a través de la zona intermedia, proceso que se conoce como migración celular. Las células (llamadas

neuroblastos) entran a la zona intermedia y asumen una forma bipolar elongada orientadas hacia la placa cortical. Las células migratorias se mueven a lo largo de un tipo de célula glial que forma fibras radiales que atraviesan el parénquima cerebral casi en su totalidad, desde la zona ventricular y subventricular, atravesando la zona intermedia, hasta la placa cortical y zona marginal. La glia radial guía y facilita la migración de los neuroblastos lo que permite la organización en columnas verticales del neocortex adulto. Las neuronas que emigran primero se colocan en las capas más profundas y las capas más superficiales son ocupadas por neuronas que emigran después, según el patrón de ensamble de "adentro hacia afuera", patrón que se sigue en todo el encéfalo con excepción de la capa granular del giro dentado de la formación del hipocampo y la capa granular de la corteza cerebelosa, las cuales siguen un patrón de "afuera hacia adentro". En el cerebelo se produce una primera migración de neuroblastos de la capa del manto hacia la capa superficial del labio rómbico donde se organizan en una capa cortical primitiva, otros neuroblastos que permanecen cerca del techo del cuarto ventrículo, constituirán los núcleos centrales del cerebelo. Después ocurre una segunda migración de neuroblastos hacia la corteza que constituirán las células de Purkinje. Finalmente ocurre una tercera migración celular, esta vez de la corteza primitiva de la que parten neuroblastos que se dirigen a la profundidad del cerebelo para formar la capa granular y las células de Golgi, horizontales y en cesta. También migran glioblastos que darán origen a las células gliales. La parte superficial de la corteza primitiva desaparece posteriormente y su lugar será ocupado por las dendritas y axones de las células de Purkinje y de la capa granular, constituyéndose así la capa molecular (Rakic, 1972; López-Antunez, 1979).

DIFERENCIACIÓN CELULAR

Los neuroblastos son células no diferenciadas las cuales al alcanzar su destino comienzan a adquirir la apariencia distintiva de las neuronas características de sus regiones particulares. A este proceso se le conoce como diferenciación celular, proceso necesario para que se lleven a cabo las funciones de los diferentes núcleos cerebrales. La migración de las células y el crecimiento externo de las extensiones celulares nerviosas llamadas dendritas y axones, implican varias sustancias químicas como por ejemplo las moléculas neuronales de adhesión celular. (Rosenzweig y Leiman, 1992; Edelman, 1985).

MUERTE CELULAR

El control del número de células está determinado por el balance entre la proliferación celular y la muerte celular. La mayoría, si no es que todas las células animales tienen la habilidad de autodestruirse por medio de la activación de un programa intrínseco de muerte celular programada o "suicidio" celular. Cuando se activa este programa se inicia una forma característica de muerte celular llamada apoptosis. La apoptosis puede ser iniciada por una gran variedad de factores intrínsecos (hormonas, factores de crecimiento, etc.) y extrínsecos (temperatura, nutrición, etc).

La apoptosis es diferente a la necrosis, la cuál es resultado de la acción de agentes externos nocivos sobre la célula. La apoptosis no desencadena respuesta inflamatoria porque se caracteriza por la autodigestión controlada de la célula, a diferencia de la necrosis donde se produce la inflamación característica.

Durante la apoptosis el núcleo y el citoplasma se condensan, la célula muerta se fragmenta en cuerpos apoptóticos que son fagocitados por los macrófagos o por células vecinas.

La apoptosis es un mecanismo muy importante para moldear al organismo en desarrollo pues permite la eliminación de células que se han producido en exceso para regular su número y funciona como mecanismo de defensa para eliminar células innecesarias y potencialmente dañinas que se han desarrollado inapropiadamente o que tienen daño genético provocado por diferentes agentes. (Benitez-Bribiesca, 1995; Steller, 1995; Thompson, 1995).

Estos cuatro mecanismos intervienen en el desarrollo del sistema nervioso el cuál está dirigido por el código genético que además es influido por sucesos internos y externos que pueden cambiar el curso del desarrollo genéticamente predeterminado.

Las células del ectodermo embrionario forman el neuroectodermo que da lugar al tubo neural, las dos terceras porciones anteriores dan origen al prosencéfalo, el mesencéfalo y el metencéfalo, y el tercio posterior da lugar a la médula espinal.

Las principales estructuras e interconexiones del cerebro comienzan a diferenciarse en etapas muy tempranas del desarrollo, sin embargo el establecimiento de la estructura fina del tejido nervioso lleva mucho tiempo y aunque la mayoría de las células nerviosas se producen prenatalmente existe

evidencia de proliferación neuronal postnatal, principalmente de interneuronas en etapas tempranas de la vida (como es el caso de las células granulares de la fascia dentada) y de células gliales hasta la edad adulta.

El cerebelo al momento del nacimiento, en los animales altricios como el ser humano y la rata, está en una etapa inmadura por lo que gran parte de su histogénesis y morfogénesis se da después del nacimiento.

El encéfalo de los animales altricios después del nacimiento sigue madurando y forma las conexiones sensoriales y motoras necesarias para la supervivencia de los organismos, por lo que en esta etapa la sinaptogénesis ocurre en tasas muy elevadas hasta conformar la estructura cerebral adulta, proceso que de acuerdo a la especie puede durar días, meses e incluso años (Jacobson, 1978).

ESTRUCTURA DE LA CORTEZA CEREBRAL

La corteza cerebral de los primates y mamíferos superiores comprende la neocorteza (corteza filogenéticamente nueva) y la allocorteza (corteza filogenéticamente antigua); ésta última se subdivide en paleocorteza y arquicorteza. Hay además áreas de transición que constituyen la mesocorteza. La allocorteza citoarquitectónicamente es una estructura que va de las seis capas de la neocorteza a tres en el hipocampo; el sitio de transición lo representa la corteza entorrinal. La neocorteza citoarquitectónicamente está constituida por seis capas bien definidas por lo que se denomina isocorteza. De la superficie a la profundidad las capas neocorticales son las siguientes (López-Antunez, 1979):

I Capa molecular: Está formada por dendritas de neuronas situadas en capas más profundas y por axones de las células de Martinotti. Contiene células horizontales, de soma pequeño, cuyas prolongaciones se distribuyen tangencialmente.

II Capa granular externa: Contiene gran número de células granulares o estrelladas, células de Martinotti y piramidales de pequeño tamaño.

III Capa de células piramidales: En este estrato se encuentran numerosas células piramidales de mediano tamaño y algunas grandes en la zona profunda.

IV Capa granular interna: En ella abundan las células granulares y se hacen escasas las piramidales, que son de pequeño y mediano tamaño.

V Capa ganglionar o de grandes células piramidales: Contiene células piramidales grandes; en el área motora del ser humano y primates superiores se hallan las células piramidales gigantes de Betz.

VI Capa de células polimórfas o multiforme: Está formada por células de diferente forma: fusiformes, triangulares, redondeadas, etc., cuyos axones se dirigen a la sustancia blanca subcortical. Entre ellas se encuentran fibras radiadas o tangenciales que llegan a la corteza.

En todo el espesor de la corteza, principalmente en la sexta capa, se hallan abundantes neuronas de cilindroje corto (neuronas Golgi tipo II o interneuronas) que se entremezclan con las neuronas de cilindroje largo (neuronas Golgi tipo I). En conjunto constituyen columnas neuronales adosadas unas a las otras y en este arreglo columnar se entremezcla también el neuropilo constituido por miríadas de dendritas y axones formando sinapsis.

SISTEMA LIMBICO

La allocorteza tiene un patrón laminar que varía de región en región, funcionalmente la parte rostral de la allocorteza participa en el procesamiento de la información olfatoria mientras que la porción caudal forma parte del sistema límbico.

Broca acuñó el nombre de *lóbulo límbico* para designar a una parte de la corteza de las regiones medial y basal del hemisferio, las cuales forman un anillo de tejido cortical que rodea al tallo cerebral. El lóbulo límbico está formado por la circunvolución del cíngulo, situada dorsalmente al cuerpo caloso, la circunvolución del hipocampo en la porción medial del lóbulo temporal y la corteza retroesplenial que une ambas circunvoluciones por detrás del cuerpo caloso.

El concepto de lóbulo límbico acuñado por Broca se amplió posteriormente y se le denominó *sistema límbico* al incluir también las siguientes estructuras: tubérculo olfatorio (espacio perforado anterior), rudimento hipocámpico, hipocampo (fascia dentada y subículo), corteza prepiriforme, uncus, giro subcaloso, circunvolución del cíngulo, corteza retroesplenial y parte del área septal. Más recientemente al sistema límbico se le ha agregado otras estructuras subcorticales: el complejo amígdalino, los núcleos septales, parte del estriado (núcleo caudado), ciertas áreas y núcleos del hipotálamo, del tálamo y la formación reticular mesencefálica (Livingston y Escobar, 1971).

El hipocampo está conectado con el tubérculo mamilar por medio de su haz eferente, el fornix, y a través del tubérculo mamilar y su haz mamilotalámico descarga impulsos al núcleo anterior del tálamo. Del núcleo anterior del tálamo se proyectan impulsos a la corteza del cíngulo, de la cual parten fibras que por el haz del cíngulo llegan al hipocampo y se cierra así el circuito de Papez.

Papez, en 1937, propuso la correlación funcional entre el sistema límbico y las emociones. El circuito de Papez comprende los siguientes niveles: metatálamo, hipotálamo, hipocampo, tálamo y corteza del cíngulo.

Se ha demostrado por medio de experimentos de estimulación y ablación que el sistema límbico participa de las respuestas autónomas, desempeña un papel importante en el olfato y junto con el hipotálamo se ocupa del comportamiento sexual, de las emociones de ira y de temor así como de la motivación. Además el sistema límbico participa en la memoria (López-Antunez, 1979).

FORMACION HIPOCAMPICA

La formación hipocámpica comprende el hipocampo o asta de Ammon, el giro dentado, el subiculum y los rudimentos hipocámpicos. La formación hipocámpica forma una elevación curva de tejido cortical que se extiende a todo lo largo del piso del cuerno temporal del ventrículo lateral. El hipocampo posee una corteza trilaminar muy primitiva a nivel del giro dentado y del asta de Ammon pero el subiculum es una zona transicional hacia la corteza entorrinal la cual tiene seis capas, por lo que se le consideran varias partes: parasubiculo (continuo a la corteza entorrinal), presubiculo, subículo y prosubiculo, este último separado del giro dentado por la cisura hipocámpica (López-Antunez, 1979).

El giro dentado (*Fascia dentata hippocampi*) está formado por arquicorteza y tiene tres capas: la capa molecular que comprende la capa exterior, una capa media granular y la capa polimorfica que constituye la capa profunda. Los cuerpos celulares de las neuronas de la capa granular están densamente empacados, sus árboles dendríticos proyectan hacia la capa molecular donde reciben impulsos de la corteza entorrinal por medio de la vía perforante. Las células granulares proyectan sus axones a la capa molecular del hipocampo formando fibras musgosas y forman colaterales que van a la capa molecular del giro dentado. Las fibras musgosas hacen sinapsis con la porción proximal de las dendritas apicales de las células piramidales del hipocampo.

El hipocampo (*Cornu ammonis* o cuerno de Ammon) está formado por tres capas que son la polimórfica, la capa de células piramidales y la capa molecular. El hipocampo se subdivide en cuatro campos, designados por las letras CA, por cuerno de Ammon, y por un número. CA1 ocupa la región superior, CA3 ocupa la región inferior, CA2 es la zona de transición entre CA1 y CA3. CA4 es la zona de transición entre el hipocampo y el giro dentado (López- Antunez, 1979).

En el asta de Ammon se consideran los siguientes estratos a partir de la superficie ventricular: el alveus, por donde cursan fibras aferentes y eferentes; el estrato oriens donde además de fibras aferentes y eferentes se hallan células en cesta y otras pequeñas células de forma variable cuyos axones se dirigen a los estratos más profundos; las células piramidales del estrato piramidal dan origen a dendritas basales que se distribuyen horizontalmente en el estrato oriens y a una dendrita apical que se ramifica en los estratos radiado y molecular situados más profundamente, de la base del soma de cada célula piramidal parten los axones que después de cursar por el estrato oriens y el alveus forman a la fimbria y posteriormente al fornix, los axones de las células piramidales dan ramas colaterales, llamadas colaterales de Schaeffer, que penetran al estrato lacunoso-molecular donde hacen sinapsis con las dendritas apicales de otras células piramidales; el estrato radiado contiene la arborización de las dendritas apicales de las células piramidales; el estrato lacunoso-molecular contiene las ramificaciones terminales de las dendritas apicales de las células piramidales, interneuronas diseminadas y fibras que llegan al hipocampo (López-Antunez, 1979).

El hipocampo ha sido implicado en la conducta emocional, en la regulación visceral y endócrina, en los procesos de condicionamiento y aprendizaje y en la organización de la memoria.

CORTEZA CEREBELOSA

En el cerebelo se encuentran cinco tipos de neuronas: las células de Purkinje, las células de Golgi, las células estrelladas externas, las células en cesta y las células granulosas; además, la corteza del cerebelo se compone histológicamente de tres

capas: una externa o molecular, una intermedia conocida como capa de células de Purkinje y una interna o granular (López-Antunez, 1979).

CAPA MOLECULAR

Está formada en gran parte por los axones de las células de la capa granular y por las arborizaciones dendríticas de las células de Purkinje y de las de Golgi. Contiene a las células estrelladas externas, que se localizan en la parte media y superior de la capa molecular, y a las células en cesta situadas en el tercio inferior de dicha capa que establecen sinapsis con la porción inicial del axón de las células de Purkinje.

CAPA DE CELULAS DE PURKINJE

En esta capa se encuentran las células de Purkinje las cuales están dispuestas en un solo estrato. Cuando se observan en el plano transversal de la folia se observa que la parte superior de su soma se estrecha para originar una gruesa dendrita la cual se subdivide en dos o tres secundarias que a su vez dan origen a un exuberante penacho de arborizaciones terciarias en las que se ve un gran número de espinas dendríticas.

CAPA GRANULAR

En esta capa se encuentra un gran número de células granulosas y células de Golgi. Las células granulosas son pequeñas, de soma esférico y tienen de 3 a 7 dendritas que terminan en forma de garra. Se ha calculado que en 1 mm³ de corteza cerebelosa humana existen de 3,000,000 a 7,000,000 de estas células. Las células de Golgi se localizan en la porción superficial de esta capa inmediatamente por debajo de las células de Purkinje, tienen un soma grande y un árbol dendrítico muy rico que se distribuye en todos los sentidos.

La corteza cerebelosa recibe sus impulsos aferentes a través de axones que se originan en diferentes partes del sistema nervioso y que al penetrar al cerebelo terminan como fibras musgosas o como fibras trepadoras.

La principal función del cerebelo es de tipo motriz, regula el tono postural, integra la información estado-cinética en la que desempeña un papel muy importante el

sistema vestibular y tiene influencia sobre los movimientos originados en la corteza cerebral. El cerebelo también participa en las funciones viscerales y de tipo sensorial.

EFFECTOS DEL PLOMO EN EL SISTEMA NERVIOSO

La intoxicación por plomo está relacionada con cambios neuroquímicos, estructurales y conductuales en los organismos, cambios que dependen de la edad del sujeto y de la dosis que reciba de una manera compleja.

EFFECTOS CONDUCTUALES

Se ha demostrado un efecto deletéreo en la exposición al plomo a bajas dosis en las funciones neuropsicológicas de niños en edad escolar (Needleman et al., 1990). Los niños con mayores niveles de plomo en el cordón umbilical muestran deficiencias en el desarrollo cognoscitivo, mayor incidencia de disfunciones en los movimientos motores finos y gruesos, déficit en la inteligencia, en el lenguaje y el habla, la atención y la ejecución de tareas en el salón de clases, pobre coordinación oculomotora (ojo-mano), mayores tiempos de reacción y pobre desempeño en tareas de digitalización. Dichas alteraciones en el funcionamiento del SNC se mantienen a través de los años y persisten hasta la edad adulta joven, edad hasta la cual se ha realizado el seguimiento de estos casos. (Bellinger et al., 1987; Needleman et al., 1990; Muñoz et al., 1993).

En adultos se han reportado síntomas no específicos como fatiga, depresión, irritabilidad, decremento de la libido, dolor de cabeza y alteraciones del sistema inmune (Silbergeld, 1992; Mesch, Lowenthal y Coleman, 1996; Ünderger et al., 1996). El plomo ocasiona déficits en la memoria a corto plazo (Solliway et al., 1995) y afecta principalmente al sistema nervioso periférico en adultos (Silbergeld, 1992).

En estudios con ratas se ha observado que el plomo produce alteraciones conductuales como menor tolerancia a nadar en agua fría (Yu et al., 1996), pero influye principalmente en los procesos de aprendizaje y memoria (Angell y Weiss, 1982; Cory-Slechta, Weiss y Cox, 1985; Altmann et al., 1993; Jett, Kuhlman y Guilarte, 1996; Jett et al., 1997).

En estudios con condicionamiento operante los resultados obtenidos no han sido consistentes en cuanto a los efectos observados por la intoxicación por plomo, por ejemplo Angell y Weiss (1982) reportaron que la intoxicación por plomo aumenta la longitud del intervalo medio entre respuestas en programas de intervalo fijo y

razón fija en animales destetados mientras que en animales lactantes produce acortamiento en el tiempo interrespuesta. Cory-Slechta, Weiss y Cox (1983) reportaron incremento en la tasa de respuestas en programas de intervalo fijo en las primeras 30 sesiones a bajas concentraciones de plomo (50 ppm de acetato de plomo) mientras que a altas concentraciones (100 a 500 ppm de acetato de plomo) la tasa de respuesta fue similar a los controles en las primeras 40 sesiones seguidas de un aumento en la tasa de respuesta después de la sesión 40. Estas inconsistencias sugieren que los resultados dependen del tipo de reforzador y programa de reforzamiento utilizado, sin embargo en términos generales se han observado tasas de respuesta aumentadas y perseveración (Silbergeld, 1992; Newland et al., 1996) así como deficiencias en la ejecución de programas concurrentes de reforzamiento (Newland et al., 1994).

En estudios conductuales se ha reportado tendencia a mayor variabilidad en los resultados obtenidos sesión-a-sesión en animales intoxicados con plomo así como mayor variabilidad entre-sujetos (Cory-Slechta y Thompson, 1979; Cory-Slechta et al., 1981).

El plomo produce alteraciones en la actividad locomotora de los organismos. El plomo a bajas dosis produce hiperactividad y aumento de los movimientos estereotipados (Walsh, 1986). También se ha reportado que los niños que han estado expuestos a este metal presentan alteraciones en la capacidad para mantener el equilibrio postural erguido, estas alteraciones se deben a cambios en el procesamiento neurosensorial de las vías propioceptivas y vestibulares, y no a alteraciones de la corteza motora (Bhattacharya et al., 1995). En monos se ha encontrado que el plomo produce deficiencias para realizar esfuerzos motores vigorosos (Newland et al., 1996). Los efectos del plomo sobre la actividad locomotora dependen del estatus nutricional, el tiempo de exposición y la edad a la cual el animal es examinado (Silbergeld, 1992).

EFFECTOS ESTRUCTURALES

El plomo a altas dosis ha sido asociado con efectos en los elementos celulares del sistema nervioso por medio del edema o directamente al dañar a las células cerebrales lo cuál ocasiona pérdida del contenido celular (Silbergeld, 1992). A nivel periférico el plomo afecta a los nervios raquídeos, principalmente a los nervios motores de las extremidades, aparentemente porque provoca alteraciones

en la mielinización, específicamente por la afección de las mitocondrias de las células de Schwann (Chisolm, 1971).

Muchos estudios se han enfocado al hipocampo, estructura que desempeña un papel muy importante en los procesos de memoria y aprendizaje y que además ha sido catalogada como blanco para el plomo pues se han reportado muchas alteraciones en su estructura (Campbell et al., 1982) y funcionamiento (Alfano, Petit y LeBoutillier, 1983; Bielarezyk, Tian y Suszkiw, 1996; Gutowski et al., 1997) que son provocadas por la intoxicación con este metal, sin embargo no existe evidencia suficiente para excluir otras regiones cerebrales.

La concentración de plomo en el hipocampo es mucho mayor que en el resto del cerebro. El hipocampo de la rata constituye el 13.40 ± 0.74 % del peso del cerebro y contiene cerca del 50% del plomo que se acumula en el tejido nervioso (Fjerdingsstad, Danscher y Fjerdingsstad, 1974).

La exposición postnatal al plomo resulta en una grave y significativa reducción en el desarrollo de la vía de fibras musgosas que proyectan del giro dentado al árbol dendrítico apical de células piramidales del hipocampo. Así la anchura máxima del hipocampo, la longitud del giro dentado y la longitud total de la vía de fibras musgosas se reduce significativamente en los animales expuestos al plomo (Alfano y Petit, 1982; Alfano, LeBoutillier y Petit, 1982).

Los animales intoxicados con plomo también presentan un decremento significativo en el número de espinas en las dendritas apicales de las neuronas piramidales del hipocampo en la región CA1 lo cual puede traer como consecuencia que las neuronas posean una capacidad deficiente para recibir e integrar impulsos aferentes (Király y Jones, 1982). El plomo reduce la potenciación a largo plazo del hipocampo y contribuye a déficits en el aprendizaje activo de evitación (Altmann et al., 1993; Lasley, Polan-Curtain y Armstrong, 1993). La potenciación a largo plazo es un modelo de plasticidad neuronal y función sináptica que está estrechamente relacionada con el receptor para glutamato N-metil-D-aspartato (NMDA), que constituye uno de los tres receptores ionóforos a este neurotransmisor. La potenciación a largo plazo se caracteriza por un incremento persistente en la transmisión sináptica producida después de un breve período de estimulación de alta frecuencia a nivel celular. A nivel conductual la potenciación a largo plazo del hipocampo se manifiesta en el aprendizaje de tareas, por lo que los déficits en la potenciación a largo plazo traen consigo problemas de aprendizaje sobre todo aquellos que involucran claves de tipo

espacial y tareas de evitación pasiva. La activación de los receptores postsinápticos NMDA es crítica en la potenciación a largo plazo en el giro dentado del hipocampo, pues diversos estudios han demostrado que los agonistas NMDA producen déficits en el aprendizaje espacial e impiden la potenciación a largo plazo (Alkodon et al., 1990; Ishihara et al., 1995; Gilbert, Marc y Lasley, 1996), por ejemplo, la inyección directa de plomo en el hipocampo deteriora la adquisición pero no afecta la ejecución cuando la inyección se aplica después de establecer el aprendizaje en el laberinto de agua de Morris (Jett, Kuhlmann y Guilarte, 1996).

Además del hipocampo, el cerebelo ha sido catalogado como blanco para el plomo, las ratas lactantes expuestas al plomo presentan segmentos de colapso vascular en el cerebelo (Goldstein, Asbury y Diamond, 1974), estructura que acumula más plomo en su materia blanca que en su corteza tanto a dosis altas como bajas (Sourander, Conradi y Lindh, 1990), además existe evidencia de desarrollo anormal de las células de Purkinje (Silbergeld, 1992).

Por otro lado la barrera hematoencefálica (BHE) es también potencialmente vulnerable a la acción tóxica del plomo en el cerebro. La BHE se considera como la serie de mecanismos que regulan los gradientes de concentración de las sustancias entre el cerebro y el medio intravascular. Es muy importante que en el SNC la composición y concentración del líquido intercelular se mantenga dentro de ciertos límites y con margen muy estrecho de variación pues de ello depende en gran parte la capacidad para generar y propagar los impulsos nerviosos. No obstante que en el fenómeno de la BHE pueden intervenir todos y cada uno de los elementos tisulares que rodean a las células nerviosas, desde la pared capilar hasta la membrana plasmática de la propia neurona, comúnmente se acepta que el principal control de restricción se ejerce en la interfase capilar-glia (López-Antúnez, 1979). Las características estructurales de los vasos capilares en el SNC son diferentes a los del resto del organismo. Los capilares cerebrales son de tipo no fenestrado para limitar la difusión de sustancias. Para compensar esta barrera impermeable y permitir el transporte selectivo en la interfase capilar-glia existen sistemas de transporte que regulan el paso de sustancias en una y otra dirección. Los astrocitos en el cerebro desempeñan un importante papel en la expresión y mantenimiento de la BHE ya que inducen al endotelio a expresar el fenotipo de dicha barrera. El plomo rompe la barrera hematoencefálica y provoca cambios vasculares predominantemente localizados en la materia blanca del cerebro y del

cerebelo incluyendo hinchazón capilar del endotelio e hiperplasia, capilares necróticos y hemorragias perivasculares (Lögberg et al., 1988). La muerte celular del endotelio puede compensarse con un incremento en el brote y crecimiento de los segmentos capilares restantes (Conradi, Kalimo y Sourander, 1990). Se ha demostrado que el plomo daña los astrocitos incluso a muy bajas dosis a diferencia de las células endoteliales que son más resistentes a la toxicidad provocada por este metal, lo que sugiere que los astrocitos al ser dañados por el plomo pierden su habilidad para mantener la expresión de la BHE en las células endoteliales (Holtzman et al., 1987). Las manifestaciones del daño en la BHE dependen de la gravedad de la intoxicación y varía desde la inadecuada entrada de sustancias esenciales y la eliminación de moléculas potencialmente destructivas hasta el colapso de ésta con la formación de edema cerebral. El plomo a bajas dosis daña la BHE y contribuye a la disfunción sináptica que en fases críticas del desarrollo altera la organización y correcto establecimiento de las sinapsis y altera el suministro de nutrientes con el consiguiente retardo en la maduración del SNC así como del flujo sanguíneo local. A altas dosis provoca edema cerebral masivo que puede llevar al organismo a la muerte (Moorhouse et al., 1988; Bressler y Golstein, 1991; Silbergeld, 1992; Linnamägi y Kaasik, 1995).

EFFECTOS NEUROQUIMICOS

Los sistemas bioquímicos y celulares pueden ser afectados por el plomo y producir alteraciones en el funcionamiento cerebral (Silbergeld, 1992; Murphy, Fox y Kelly, 1995; Gilbert, Marc y Lasley, 1996). El plomo puede afectar la fidelidad de síntesis del DNA *in vitro* y perturbar la proliferación celular y la síntesis de DNA *in vivo* (Needleman et al., 1984). El plomo interfiere con las funciones mitocondriales y altera el suministro de energía ya sea deprimiendo la síntesis de citocromo o uniéndose al ATP (Bull et al., 1979; Silbergeld, 1992). El plomo ocasiona la deficiente síntesis del grupo hemo, grupo prostético de importantes proteínas como la hemoglobina, citocromos, catalasas, entre otras (Molina et al., 1979).

En cuanto a la relación entre el Pb y los neurotransmisores, los efectos de este metal parecen ser dependientes de regiones cerebrales más que específicos de algún neurotransmisor. En estudios comparativos entre los ganglios basales, la corteza y el sistema mesolímbico, éste último es más sensitivo a los efectos del plomo mientras que los ganglios basales y la corteza motora parecen no ser

afectados por el Pb *in vivo*, lo que parece ser consistente con la ausencia de efectos de la función motora de origen central (Silbergeld, 1992).

El Pb *in vivo* altera la liberación de acetilcolina en las terminales presinápticas de la placa neuromuscular, los ganglios simpáticos y los ganglios cervicales superiores. El plomo decrementa la actividad colinérgica central e incrementa la liberación espontánea de acetilcolina (Carroll, Silbergeld y Goldberg, 1977). El Pb inhibe la función colinérgica por medio de la inhibición de recaptura de su precursor (Silbergeld, 1977).

El plomo induce la liberación espontánea de dopamina por medio de un mecanismo neuronal aún no identificado y disminuye su liberación provocada por despolarización aparentemente porque compite con el influjo de calcio (Minnema, Greenland y Michaelson, 1986; Walsh et al., 1986; Moresco et al., 1988).

El plomo ocasiona cambios en el sistema serotoninérgico cerebral. La elevación de los niveles de Pb posiblemente inhibe la liberación y/o potencia la recaptura de serotonina y por lo tanto afecta la transmisión serotoninérgica (Cahero, 1992).

La disrupción de estos sistemas no causa muerte celular pero si altera la eficiencia del sistema nervioso. En resumen el Pb incrementa la liberación espontánea de dopamina y acetilcolina en las terminales presinápticas (Bressley y Goldstein, 1991).

MECANISMOS DE LA NEUROTOXICIDAD DEL PLOMO

El plomo ejerce su toxicidad sobre el sistema nervioso central de una manera aún no totalmente conocida. Hasta la fecha se aceptan dos principales mecanismos de su toxicidad, aunque pudieran existir más.

El plomo actúa sobre el sistema nervioso central como toxina neuroontogénica que interfiere con las conexiones y diferenciación del SNC. También actúa como toxina neurofarmacológica que interfiere con los mecanismos iónicos de neurotransmisión (Silbergeld, 1992).

MECANISMO NEUROONTOGENICO

La exposición al plomo durante la vida fetal afecta tanto el crecimiento general del sistema nervioso central así como la diferenciación y sinaptogénesis neuronal y, dado que estos procesos ocurren dentro de parámetros de tiempo precisos, por lo

tanto las consecuencias serán permanentes a menos que se presente otra oportunidad para que se lleven a cabo nuevamente (Silbergeld, 1992; Goldstein, 1992).

Las interconexiones entre las neuronas se hacen cada vez más densas después del nacimiento, así en el ser humano a la edad de 2 años las regiones corticales tienen el doble de sinápsis de los que se tendrán en la edad adulta. Entre los 2 y los 15 años la reducción de la arborización dendrítica elimina aquellos contactos que no son necesarios para el funcionamiento adecuado del organismo. Por ello debe existir un equilibrio entre la formación y la eliminación de sinapsis, lo cuál constituye la mayor expresión anatómica y funcional de plasticidad del sistema nervioso en desarrollo y aunque el esquema general de producción y eliminación de sinapsis está bajo el control genético, la experiencia, la actividad neuronal y otros factores externos determinan que sinapsis persistirán y cuales no. El plomo altera los sistemas bioquímicos que median el establecimiento de las interconexiones celulares, así como el número de sinapsis y su maduración.

Existen varios procesos celulares que guían el establecimiento del patrón neuronal. Estos mecanismos son dinámicos y se expresan durante el desarrollo del sistema nervioso, así como en etapas posteriores a éste dando como resultado la plasticidad y el dinamismo del tejido cerebral. Uno de estos mecanismos lo constituyen las moléculas neuronales de adhesión celular (MNAC) que son proteínas localizadas en la superficie exterior de las células y una vez iniciado el crecimiento orientan a los nuevos axones y dendritas para que establezcan las sinapsis adecuadas, por ello las MNAC son consideradas como uno de los factores que regulan los movimientos morfogenéticos.

Dado que el plomo altera la acción de las MNAC se afecta el desarrollo de la comunicación celular y establecimiento normal del número y densidad de contactos sinápticos que a su vez impide la conformación adecuada de la estructura fina del sistema nervioso; tal es el caso del giro dentado del hipocampo que muestra disminución en el número de MNAC y por ende afecta la neurogénesis. Efecto similar ocurre en los organismos adultos, ya que la expresión de MNAC continua en regiones cerebrales con potencial de neuroplasticidad, como el hipocampo, donde participa en la formación de nuevas sinapsis, mecanismo importante en el proceso de memoria (Goldstein, 1992; Edelman, 1985; Murphy, Fox y Kelly, 1995).

MECANISMO NEUROFARMACOLOGICO

La intoxicación neurofarmacológica involucra interacciones entre el plomo, el calcio y el zinc, interfiriendo con los mecanismos sinápticos como son la exocitosis, la cual puede ser inhibida o facilitada, y la transducción. Como estos efectos están directamente relacionados con la presencia de plomo en la sinapsis, son potencialmente reversibles si el plomo es removido, sin embargo la exposición continua puede provocar cambios a nivel pre y post- sináptico a largo plazo como son las alteraciones en el funcionamiento del hipocampo.

Los mecanismos bioquímicos de la toxicidad por plomo no se conocen perfectamente sin embargo se sabe que el plomo puede competir con el zinc, el hierro y el calcio, limitar su eficacia en sitios críticos y/o sustituirlos en eventos sinápticos dependientes de estos iones (Shih y Hanin, 1978; Silbergeld, 1992). El plomo altera el transporte de hierro a través de la membrana mitocondrial (Molina et al., 1979).

Muchas funciones celulares están reguladas por el aumento en la concentración intracelular de calcio (Ca), el cuál puede activar directamente ciertas enzimas o unirse a proteínas reguladoras como la calmodulina (Goldstein y Ar, 1983), además de que interviene en la liberación y recaptura de neurotransmisores y sus precursores (Silbergeld, 1977). El plomo bloquea la habilidad del calcio de buscar un sitio regulador activo, entra en la célula e imita la acción de éste como regulador de funciones celulares (Aungst y Fung, 1985; Goldstein, 1992; Goldstein y Ar, 1993). El Pb incrementa la liberación espontánea de neurotransmisor de una manera similar para muchas sustancias transmisoras y este incremento en la liberación está relacionado con el hecho de que la entrada de Ca en la célula es importante para que se libere neurotransmisor (Minnema, Michaelson y Cooper, 1988).

La proteína cinasa C es una enzima dependiente de calcio y fosfolípidos que puede mediar la proliferación, la diferenciación y función celular por medio de la fosforilación de proteínas. El plomo estimula la proteína cinasa C a muy bajas concentraciones de este metal en la sangre (Markovac y Goldstein, 1988; Markovac y Goldstein, 1988), lo que altera los procesos mediados por esta proteína.

EL PROBLEMA DE LA INTOXICACION POR PLOMO

Los experimentos citados anteriormente demuestran que el plomo tiene un efecto deletéreo sobre el sistema nervioso de los organismos, en especial de los organismos jóvenes. La intoxicación por plomo constituye un problema de salud pública en el mundo actual (Landrigan y Curren, 1992) y para tratar de contrarrestarlo se han tomado medidas como el empleo de gasolinas sin plomo; sin embargo, el impacto de estas medidas ha sido limitado pues otras fuentes potenciales de exposición no han sido sustancialmente reducidas (Finkelman, 1996), tales como el aumento de vehículos circulantes, el uso y fabricación de pigmentos y lacas que contienen plomo y el funcionamiento de industrias como la del algodón que emiten grandes cantidades de plomo al ambiente. Además existen otras fuentes que pudieran parecer insignificantes pero que contribuyen a la contaminación por plomo cuya exposición crónica a bajos niveles también afecta al sistema nervioso. Estas fuentes son el uso de cosméticos y remedios caseros (Al-Salen et al., 1996; Mojdehi y Gurtner, 1996), uso de vasijas vidriadas con plomo y el hábito de morder lápices que contienen pigmentos plomados (López et al., 1996).

Por todo esto se siguen presentando casos de intoxicación por plomo y el problema se vuelve alarmante sobre todo en las grandes ciudades donde el nivel de plomo en la sangre de los seres humanos es mayor con respecto a la población rural.

El plomo no mata las neuronas más que a altas dosis pero si inhibe ciertos aspectos del desarrollo neuronal como la sinaptogénesis y altera mecanismos bioquímicos que subyacen a las alteraciones en el funcionamiento del SNC, un ejemplo de dichas alteraciones lo constituyen las deficiencias en el proceso de aprendizaje, por ello es importante estudiar la acción que ejerce el Pb sobre los seres vivos no solo para tratar de entender el funcionamiento del sistema nervioso intoxicado sino como una aproximación para comprender al sistema nervioso sano.

La ontogenia de la habilidad para nadar en las ratas ha sido utilizada para estudiar cambios en el desarrollo del SNC ya que el nado representa una respuesta adaptativa que requiere la organización integrada de respuestas reflejas (reflejos vestibulares, reflejos extenso-flexores) por lo que es un modelo biológico completo que sirve para analizar el sustrato neural y su plasticidad pluripotencial (Schapiro,

Salas y Vukovich, 1970). El estudio del nado en ratas ha sido estudiado relacionado con factores como la desnutrición (Cintra y Galván, 1990) y la administración de diferentes hormonas (Schapiro, Salas y Vucovich, 1970), entre otros, pero en la literatura no se ha reportado su ontogenia en la intoxicación por plomo aunque si se han hecho experimentos de aprendizaje en el laberinto de agua de Morris (Jett, Kuhlmann y Guilarte, 1996; Jett et al., 1997).

El plomo altera la actividad motora fina y gruesa, y produce alteraciones posturales y temblores. Caminar en una cuerda suspendida en el aire requiere de la integración de la información vestibular y propioceptiva espinal con la adecuada ejecución motriz.

Las alteraciones conductuales pueden estar relacionadas con cambios en la estructura y conformación del SNC a nivel citoarquitectónico y macroscópico o bien con alteraciones a nivel bioquímico y funcional. En el presente trabajo, por medio de un modelo animal se estudió como la exposición al plomo durante la vida fetal y postnatal puede afectar la conducta de los organismos y provocar cambios significativos en la citoarquitectura del SNC sobre todo a nivel cortical y en la estructura del sistema límbico.

METODO

PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACION DEL PROBLEMA

Los niveles elevados de plomo en el ambiente de las ciudades constituyen un peligro para el desarrollo, crecimiento y función del tejido nervioso tanto en el ser humano como en los animales. Hoy en día se sabe que las sales de plomo ejercen un efecto dañino sobre los componentes celulares y bioquímicos del tejido nervioso y se sabe también que ese daño redundará en forma deletérea sobre la organización de la conducta y del aprendizaje de los niños. Sin embargo hasta ahora no se ha hecho un estudio sistemático de la intoxicación crónica por sales de plomo las cuales afectan el desarrollo del sistema nervioso central tanto en la especie humana como en los animales domésticos y salvajes. Por lo tanto, es de interés estudiar en un modelo experimental los efectos tóxicos del plomo sobre las crías nacidas de madres que ingirieron este metal durante el embarazo.

HIPOTESIS

El plomo altera la estructura y función del sistema nervioso central en desarrollo y ocasiona déficits en el aprendizaje y por ende en la conducta de los organismos.

VARIABLES

Variable independiente: Intoxicación por plomo

Variable dependiente: Alteraciones conductuales y alteraciones estructurales del tejido cerebral.

DEFINICION OPERACIONAL DE VARIABLES

Variable independiente: Consumir agua con acetato de plomo.

Variable dependiente:

i. Alteraciones conductuales:

Desempeño en la conducta de nado y tiempo para salir de un recipiente con agua por una escalera.

Tiempo para recorrer una cuerda suspendida en el aire.

ii. Alteraciones estructurales

Como alteraciones estructurales del tejido cerebral se consideraron cambios en la forma de las neuronas y cambios en la conformación de las diferentes capas corticales.

DEFINICION CONCEPTUAL DE VARIABLES

Intoxicación: envenenamiento, especialmente estado crónico de envenenamiento por la absorción continua de cantidades de un tóxico exógeno o endógeno. Estado morbozo debido a un tóxico.

Alteración conductual: cualquier cambio (ordinariamente en mal sentido) en la naturaleza, forma o cualidad en el modo o manera de portarse.

Alteración estructural del sistema nervioso: cualquier cambio en la organización y conformación del tejido cerebral.

SUJETOS

Se utilizaron como grupo experimental 20 ratas blancas Wistar del Laboratorio del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM recién nacidas (1 día) de ambos sexos cuyas madres ingirieron agua con acetato de plomo al 1% *ad libitum* durante y después del embarazo, las ratas recién nacidas ingirieron Pb, primero indirectamente a través de la leche materna y a partir del día 25 postnatal directamente del agua. El grupo testigo fue de 23 ratas no intoxicadas pero con las mismas características del grupo experimental.

MUESTREO

Aleatorio simple: El laboratorio del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM proporcionó las ratas, las cuales fueron divididas al azar en dos grupos, un grupo

ingirió agua que contenía acetato de plomo y el otro grupo ingirió agua sin acetato de plomo, las crías de las que consumieron acetato de plomo conformaron el grupo experimental y las crías de las que no consumieron acetato de plomo el grupo control.

TIPO DE ESTUDIO

Experimental

DISEÑO

Se empleó un diseño de dos muestras independientes, una de las cuales formó el grupo control y la otra el grupo experimental.

INSTRUMENTOS Y MATERIALES

- ✓ Recipiente para baño maría (Precision Scientific Group, modelo 186, GCA corporation) de 80cm de largo por 51cm de ancho y 24cm de profundidad. El recipiente tenía una escalera colocada en uno de los lados de 51cm, el recipiente contenía agua a temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$.
- ✓ Cuerda de 1 cm de espesor y 80 cm de largo suspendida en el aire encima del recipiente para baño maría.
- ✓ Acetato de Plomo al 10% (Sigma de México).
- ✓ Cronómetro.
- ✓ Sustancias y reactivos para realizar las tinciones histológicas.

PROCEDIMIENTO

PREPARACION DE LOS ANIMALES

Ratas adultas hembras (n=14, peso: 260-300 gr) fueron intoxicadas crónicamente por medio de la administración por vía oral con sales de plomo solubles en agua, 100ml de solución de acetato de plomo al 10% se diluían en 1000ml de agua quedando una solución de acetato de plomo al 1%. Una vez intoxicadas (dos

semanas de ingestión del tóxico) se estableció el embarazo. Durante todo el período de la preñez las ratas siguieron ingiriendo *ad libitum* las sales de plomo.

Las camadas resultantes del embarazo ingirieron acetato de plomo, primero indirectamente por medio de la leche materna y a partir del día 25 postnatal directamente por vía oral a través del agua.

Ratas adultas hembras (n=6, peso: 260-300 gr) que no ingirieron agua con acetato de plomo y sus camadas resultantes conformaron el grupo testigo.

PRUEBA CONDUCTUAL DE EQUILIBRIO EN CUERDA

Las ratas a partir del primer día postnatal fueron colocadas en la cuerda suspendida en el aire, una vez que fueron capaces de mantener el equilibrio fueron entrenadas para recorrer la cuerda a todo lo largo, las ratas eran colocadas manualmente en uno de los extremos, caminaban por la cuerda al final de la cual estaba colocada su caja.

Se registró el tiempo que emplearon para realizar esta pruebas conductual en 8 sesiones para cada sujeto a la edad promedio de 20-30 días postnatal.

PRUEBA CONDUCTUAL DE NADO

Las ratas recién nacidas, tanto del grupo control como del experimental, a partir del primer día postnatal se colocaron en el recipiente con agua para observar su conducta de nado, se retiraron manualmente para evitar que se ahogaran y se secaron con una toalla antes de regresarse a su caja. Una vez que eran capaces de nadar y no ahogarse fueron entrenadas para salir del recipiente con agua. Las ratas eran colocadas manualmente en uno de los extremos de 51 cm, debían nadar al otro extremo donde estaba colocada la escalera para poder salir del recipiente, una vez fuera eran secadas y colocadas en su caja. Se cronometró el tiempo que tardaron en realizar esta tarea desde que eran colocadas en el recipiente con agua hasta que salían de él. Se registraron 8 sesiones para cada sujeto a la edad promedio de 20-30 días postnatales.

ESTUDIO HISTOLOGICO

Tres ratas de cada grupo a la edad de 10, 20 y 30 días postnatai fueron anestesiadas con pentobarbital a la dosis de 1ml/2.5 kg de peso. Por medio de incisión en el torax se expuso el corazón, se hacia un corte en la aurícula derecha y con una jeringa de 10 ml insertada en el ventrículo izquierdo se hizo perfusión primero con solución salina fisiológica al 0.9% para eliminar la sangre e inmediatamente después se pasaron 20 ml de formol al 10% con solución acuosa. Los cerebros se extrajeron y se continuo su fijación por inmersión en formol al 10% por un período no menor de 10 días. Una vez completada la fijación los cerebros se cortaron seriadamente en sentido coronal o sagital en secciones aproximadamente de 2 mm de espesor. Después se deshidrataron por pasar sucesiones de alcoholes en concentración progresiva y se incluyeron en parafina. De los bloques se hicieron cortes con microtomo de 6 a 8 micras de espesor y se procedió a teñirlas con los métodos de hematoxilina-eosina, tinción de Nissl con violeta de cresilo, método de Bodian con proteinato de plata para fibras neuronales y método de Klüver-Barrera para mielina y células nerviosas. Otros cerebros se tiñeron en bloques de 3 a 4 mm de espesor con la técnica modificada de Golgi para células nerviosas. Se hicieron cortes en crióstato y se montaron con la técnica usual.

ANALISIS ESTADISTICO DE RESULTADOS

Los resultados fueron analizados por medio de prueba t de student para grupos independientes (Daniel, 1996) con un nivel de significancia de 0.05, para cada una de las pruebas conductuales utilizadas. En la prueba de nado se compararon las medias del tiempo empleado para salir del recipiente con agua del grupo experimental y del grupo testigo. En la prueba de equilibrio se compararon las medias del tiempo empleado para recorrer la cuerda suspendida en el aire del grupo experimental y del grupo testigo.

Las preparaciones histológicas se analizaron descriptivamente, comparando los cerebros de las ratas del grupo experimental con el grupo testigo de acuerdo a su edad.

RESULTADOS

DATOS GENERALES

DATOS GENERALES DE LAS MADRES (grupo experimental y testigo)

ESTADO DE SALUD

El grupo experimental constó de 14 ratas hembra y el grupo testigo de 6. Las madres de ambos grupos no presentaron enfermedades durante el estudio, por lo que no se presentó ninguna muerte espontánea, además no se observaron alteraciones motoras como parálisis de las extremidades o temblores en las ratas del grupo experimental.

El peso corporal de las madres del grupo experimental y del grupo testigo se mantuvo sin cambio, excepto durante el embarazo.

En el grupo experimental se presentaron algunos casos de infertilidad ($n=4$), ya que hubo ratas que no se embarazaron, por lo que fueron excluidas del experimento.

En cuanto al número de crías que nacían por parto no hubo diferencias significativas entre las madres de ambos grupos. El grupo experimental tuvo un promedio de 8 crías por parto y el grupo testigo de 10 crías.

INGESTA DE AGUA

La ingestión de agua fue siempre menor en el grupo experimental.

CONDUCTA

Las ratas de ambos grupos alimentaban a sus crías, las recuperaban cuando salían del "nido" y las secaban cuando eran regresadas a su caja después de nadar.

DATOS GENERALES DE LAS CRIAS (grupo experimental y testigo)

ESTADO DE SALUD

En el grupo experimental hubo mayor índice de mortalidad de las ratas recién nacidas en comparación con el grupo testigo en los 10 primeros días postnatales

(media de muertes por camada, grupo testigo 1.8; grupo experimental 4.5). Pasado este periodo, día 10 postnatal, no se presentaron muertes.

Las ratas del grupo testigo abrieron los ojos entre los días 12-14 postnatal, las ratas de grupo experimental abrieron los ojos entre los días 14-16 postnatal.

En las ratas que conformaron ambos grupos se observó un incremento gradual en el peso corporal, pero las ratas recién nacidas del grupo experimental (n=20) presentaron menor peso y talla corporal con respecto al grupo testigo (n=23) durante todo el tiempo que duró el estudio. En la siguiente tabla se muestran las medias de los pesos de las ratas a diferentes edades, la diferencia es más notable a la edad de 20 y 30 días postnatales.

MEDIA DEL PESO CORPORAL DE LAS CRÍAS (gramos)

GRUPO	RECIEN NACIDA	10 DIAS	20 DIAS	30 DIAS
TESTIGO	6.8	16.9	35.9	73.6
EXPERIMENTAL	6.0	16.4	26.5	36.4

INGESTA DE AGUA

Cuando las ratas eran capaces de tomar agua de la botella, se observó que las ratas del grupo experimental ingerían menos líquido que las ratas testigo.

CONDUCTA

Las crías del grupo experimental, tanto hembras como machos mostraron retardo en la maduración sexual; a la edad de 30 días a la cual fueron sacrificadas algunas de las ratas machos aún no presentaban descenso de los testículos (n=7 de 10) y algunas de las hembras (n=4 de 10) no presentaban apertura vaginal en comparación con las ratas del grupo testigo las cuales a la edad de 30 días presentaban esas características sexuales secundarias de manera evidente.

ESTUDIO EXPERIMENTAL EN CRIAS

PRUEBA DE EQUILIBRIO

GRUPO TESTIGO

Las ratas del grupo testigo presentaron la siguiente secuencia de desarrollo para poder ejecutar la prueba de equilibrio. Entre los días 7-14 sujetan la cuerda con las patas delanteras por períodos breves. Al día 15 tratan de subir sus patas traseras a la cuerda pero aún no son capaces de hacerlo y por lo tanto caen. Entre los días 16-18 se sostienen en la cuerda apoyando sus 4 patas cuando están estáticas pero cuando tratan de caminar caen. A la edad de 18-19 días se sostienen y equilibran bien al estar estáticas, al tratar de caminar recorren tramos pequeños y caen o resbalan quedando suspendidas de sus 2 patas delanteras, a veces pueden volver a subir a la cuerda y otras veces no. A esta edad no siempre caminan en la dirección que las conducirá a la salida de la cuerda. A la edad de 20 días ejecutan bien la tarea, mantienen el equilibrio al estar paradas y al caminar, al tercer ensayo todas las ratas caminan en la dirección deseada por lo que a esa edad se les cronometró el tiempo que tardaron en recorrer la cuerda en su totalidad, se registró una sesión diaria.

GRUPO EXPERIMENTAL

En términos generales las ratas recién nacidas del grupo experimental entre los días 7-15 postnatal eran capaces de sujetar la cuerda con las dos patas delanteras y quedar suspendida de ella por períodos breves. A los 16-18 días son capaces de equilibrarse en la cuerda con sus 4 patas pero al tratar de caminar pierden el equilibrio y caen. A la edad de 18-19 días son capaces de caminar por la cuerda, pero no en su totalidad ya que caen o resbalan y quedan colgadas de sus dos patas delanteras. A partir del día 20 son capaces de caminar a todo lo largo de la cuerda, a esa edad se les cronometra el tiempo que tardan en realizar la tarea; les toma un máximo de tres ensayos el aprender la dirección en que deben caminar para poder abandonar la cuerda.

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE EQUILIBRIO

Cuando las ratas, tanto del grupo testigo como del grupo experimental fueron capaces de mantener el equilibrio y caminar por la cuerda se les enseñó a recorrerla en su totalidad y se les cronometró el tiempo que tardaron en realizar la tarea, desde que eran colocadas en la orilla de la cuerda hasta que llegaban al otro extremo y tocaban "tierra firme". Se tomaron 8 sesiones, una por día, para cada sujeto a la edad promedio de 20-30 días postnatal.

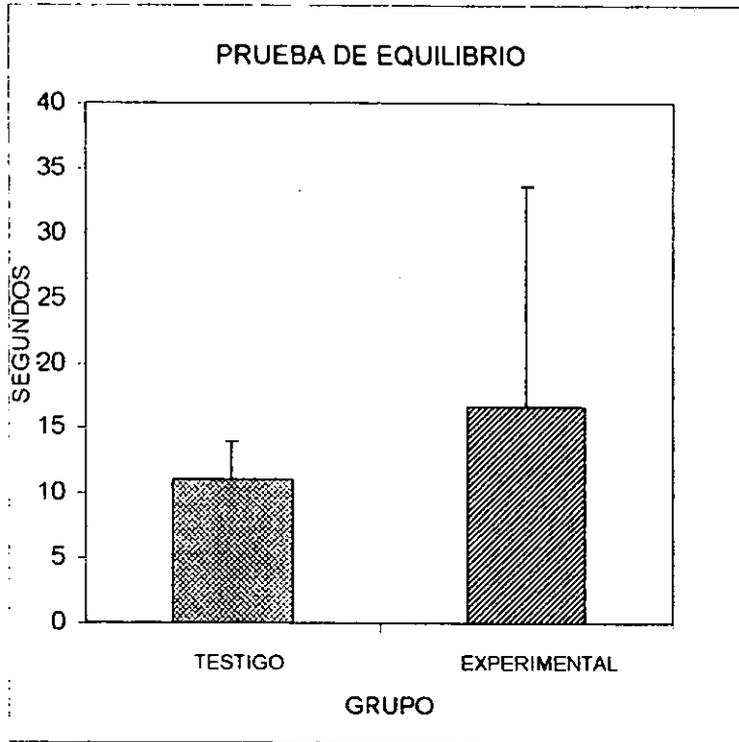
Las ratas del grupo experimental no mostraron diferencias significativas con respecto al grupo control en cuanto al tiempo que emplearon para recorrer la cuerda (prueba *t de student* $p < 0.05$), sus medias obtenidas fueron 11.01 segundos para el grupo testigo y 16.68 segundos para el grupo experimental. Una diferencia que se observó entre ambos grupos fué que el grupo experimental presentó mayor variabilidad entre los sujetos en comparación con el grupo testigo, por lo cual su desviación estándar fué mayor. En la prueba de equilibrio la desviación estándar del grupo experimental fué 16.97 y para el grupo testigo 2.93. Los resultados se muestran en la gráfica 1.

En cuanto al número de ensayos requerido para adquirir el aprendizaje de la dirección en que debían caminar no hubo diferencias entre los grupos, los sujetos emplearon un promedio de tres ensayos para alcanzar la ejecución deseada y una vez adquirido el aprendizaje no caminaban en la dirección opuesta. A veces perdían el equilibrio, colgaban de dos patas, pero eran capaces de subir otra vez a la cuerda.

PRUEBA DE NADO

GRUPO TESTIGO

Las ratas del grupo testigo a la edad de 2-7 días postnatales tratan de nadar y se mueven pero no son capaces de salir a la superficie del agua por lo que están totalmente inmersas en el líquido, mueven sus 4 patas y frecuentemente la cola, nadan en círculo y tratan de sacar la nariz pero no lo logran. A los 8 días sacan la parte superior de su cabeza fuera de la superficie del agua. Entre los 10-14 días



GRAFICA 1. En esta gráfica se muestran los resultados obtenidos en la prueba de equilibrio en la cuerda suspendida en el aire (prueba t de student $p < 0.05$). Grupo testigo $\bar{x} = 11.01 \pm 2.93$; grupo experimental $\bar{x} = 16.68 \pm 16.97$.

meten y sacan la nariz del agua, nadan moviendo sus 4 patas, cuando llegan a tocar la escalera la ignoran y no se sujetan de ella. Entre los 15-16 días nadan en círculo y línea recta, al llegar a la orilla del recipiente mueven sus patas delanteras para tratar de salir, sacan la nariz y pueden sobrevivir pero al no encontrar la salida empiezan a ahogarse entre uno a dos minutos y son recuperadas manualmente. A la edad de 17-18 días sujetan la escalera cuando la encuentran, algunas ratas son capaces de subir por ella otras no. A partir del día 19 nadan sin ahogarse y resisten hasta que localizan la escalera, ya son capaces de subir por ella y se les cronometra el tiempo que emplean en salir del recipiente.

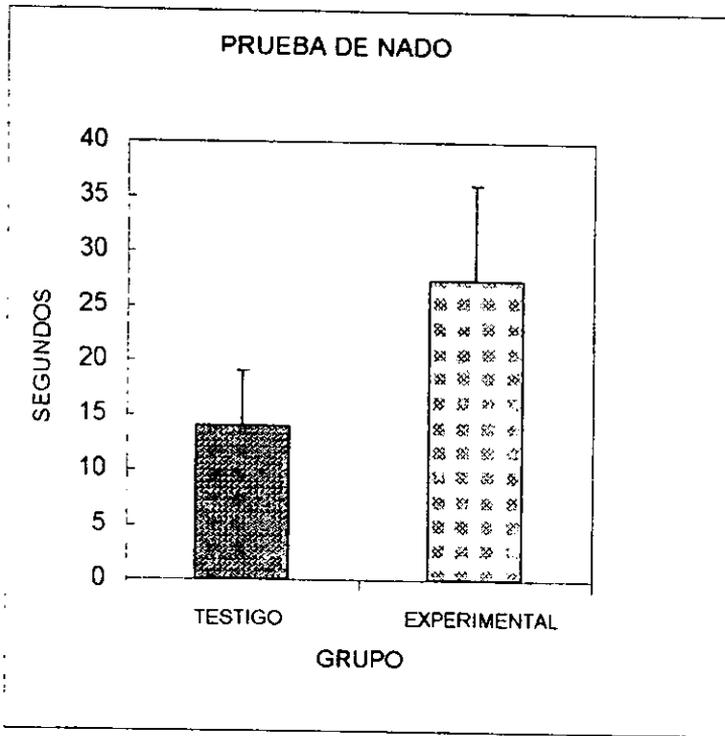
GRUPO EXPERIMENTAL

En cuanto a las ratas recién nacidas del grupo experimental a la edad de 2-8 días se mueven bajo el agua, no flotan ni sacan parte alguna de su cuerpo fuera de la superficie del agua, pero no se hunden precipitándose hasta el fondo. A la edad de 10 días mueven sus cuatro extremidades, se desplazan en círculo y empiezan a sacar la parte superior de su cabeza fuera del agua, como aún no han abierto los ojos solo se guían por el tacto, cuando llegan a tocar la escalera la ignoran. A la edad de 16-17 días nadan con la cabeza fuera del agua, se mueven en círculo y en línea recta, al llegar a la orilla del recipiente tratan de salir moviendo sus patas delanteras, cuando localizan la escalera la ignoran, hasta esta edad son recuperadas manualmente cuando comienzan a hundirse. A los 18-19 días nadan en línea recta, no se ahogan y se sujetan de la escalera, algunas pueden salir del recipiente otras no. A los 20 días las ratas pueden completar la prueba sin necesidad de ser recuperadas manualmente y se les cronometró el tiempo.

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE NADO

Cuando los sujetos fueron capaces de localizar la escalera y subir por ella se cronometró el tiempo, desde el momento en que eran colocadas en el agua hasta que estaban fuera del recipiente, después de subir por la escalera. Se cronometraron 8 sesiones para cada sujeto entre los 20-30 días postnatales, edad a la cual salían del recipiente por si solas.

Las ratas recién nacidas del grupo experimental mostraron deficiencias significativas en el tiempo empleado para salir del recipiente con agua con respecto a las ratas que conformaron el grupo testigo (prueba *t de student* $p < 0.001$). La media del grupo experimental fue de 27.35 segundos y el grupo testigo obtuvo una media de 14.17 segundos. En la prueba de nado también se presentó mayor variabilidad entre sujetos en el grupo experimental el cuál obtuvo una desviación estándar de 8.78 mientras que la desviación estándar del grupo testigo fue de 4.86. Los resultados se muestran en la gráfica 2.



GRAFICA 2. En esta gráfica se muestran los resultados obtenidos en la prueba de nado (prueba t de student $p < 0.001$).

Grupo testigo $\bar{x} = 14.17 \pm 4.86$; grupo experimental $\bar{x} = 27.35 \pm 8.78$.

ESTUDIO HISTOLOGICO

GRUPO TESTIGO

Los cerebros de las ratas del grupo testigo no presentaron alteraciones macroscópicas o malformaciones congénitas.

El estudio histológico mostró que las neuronas del grupo testigo a la edad de 10 días presentan desarrollo de su árbol dendrítico. En la corteza cerebral las células piramidales presentan desarrollo del neurópilo, aunque aún no alcanzan el número

de dendritas del cerebro adulto. En el hipocampo las neuronas piramidales presentaban desarrollo de numerosas ramificaciones en su árbol dendrítico, al igual que las células de Purkinje del cerebelo a esa misma edad. A los 10 días en el cerebro se observa la zona germinativa periventricular y en el cerebelo se observa la capa granular externa.

A la edad de 20 días los centros germinales periventriculares en el cerebro han casi desaparecido, lo que indica un estadio de migración celular avanzado. En el cerebelo la capa granular externa ha casi desaparecido por completo, lo que indica una migración celular casi terminada. A esta edad las neuronas tanto del cerebro (corteza e hipocampo) como del cerebelo siguen aumentando de tamaño y formando nuevas ramificaciones, por lo que se observa un árbol dendrítico mayor que a la edad de 10 días.

A la edad de 30 días los centros germinales periventriculares han desaparecido del todo. A esta edad se han mielinizado las fibras cerebrales y la neocorteza cerebral presenta claramente el patrón de seis capas, con los elementos celulares que componen a cada una de ellas. El árbol dendrítico de las neuronas piramidales de la corteza y las neuronas del hipocampo es mayor lo que indica mayor conectividad cerebral. En el cerebelo la capa granular externa ha desaparecido y en su lugar se observa la capa molecular por lo que a esta edad se observa claramente la estructura histológica de tres capas.

GRUPO EXPERIMENTAL

Los cerebros de las ratas del grupo experimental no presentaron malformaciones macroscópicas como por ejemplo presencia de estructuras dobles o ausencia de algún lóbulo cerebral.

En el grupo experimental a la edad de 10 días se observó un pobre desarrollo del árbol dendrítico en diversas partes del encéfalo como, por ejemplo, en las neuronas piramidales de la corteza cerebral, las neuronas piramidales del hipocampo (Figura A) y las células de Purkinje del cerebelo (Figura B) en comparación con los encéfalos del grupo testigo. A esta edad se observa claramente la presencia de la zona germinativa periventricular en los hemisferios cerebrales y la capa granular externa en el cerebelo.

A la edad de 20 días se observó persistencia de los centros germinales periventriculares en el cerebro (Figura C) y persistencia de la capa granular

externa del cerebelo (Figura D), lo cual indica un retraso en la histogénesis neuronal y en la migración de los neuroblastos. Las neuronas siguen desarrollando su árbol dendrítico el cuál es mayor que a la edad de 10 días pero es menor en comparación con las neuronas del grupo testigo de 20 días.

A la edad de 30 días la neocorteza presenta el patrón característico de seis capas con los elementos celulares que conforman a cada una de ellas, pero en la corteza cerebral se observaron neuronas rotadas e incluso totalmente invertidas (Figura E). Las neuronas piramidales de la corteza y del hipocampo tienen mayor desarrollo del neurópilo que a la edad de 10 y 20 días, pero éste es menor comparado con el desarrollo del árbol dendrítico del grupo testigo a los 30 días postnatales. En el cerebro también se observa retardo en la mielinización de sus fibras.

En el cerebelo la capa granular externa ha desaparecido y se observa su estructura característica de tres capas. En esta estructura también se observó edema, hallazgo que no fué consistente en todos los cerebelos estudiados.

RESULTADOS DEL ESTUDIO HISTOLOGICO

Al comparar los resultados observados en el tejido nervioso de las ratas del grupo experimental y las del grupo testigo se obtienen los siguientes resultados.

En los centros germinales se encuentran los neuroblastos que son células que migrarán para permitir la organización en columnas verticales del neocortex adulto. Los sujetos del grupo experimental presentaron persistencia de los centros germinales periventriculares en el cerebro a la edad de 20 días mientras que en el grupo testigo a esa misma edad los centros germinales periventriculares eran muy pequeños y ya casi habían desaparecido; esto indica retraso en la migración celular de las ratas del grupo experimental.

También se observó retraso en la migración celular en el cerebelo de las ratas del grupo experimental. En esta estructura se observó persistencia de la capa granular externa a edades avanzadas, lo que indica retraso en la migración de los neuroblastos que darán origen a las células de la capa granular, células Golgi tipo II, células horizontales y células en cesta. La capa granular externa debe desaparecer para dar lugar a la capa molecular formada por las dendritas y

axones de las células de Purkinje y Golgi, además de que contiene células estrelladas y en cesta.

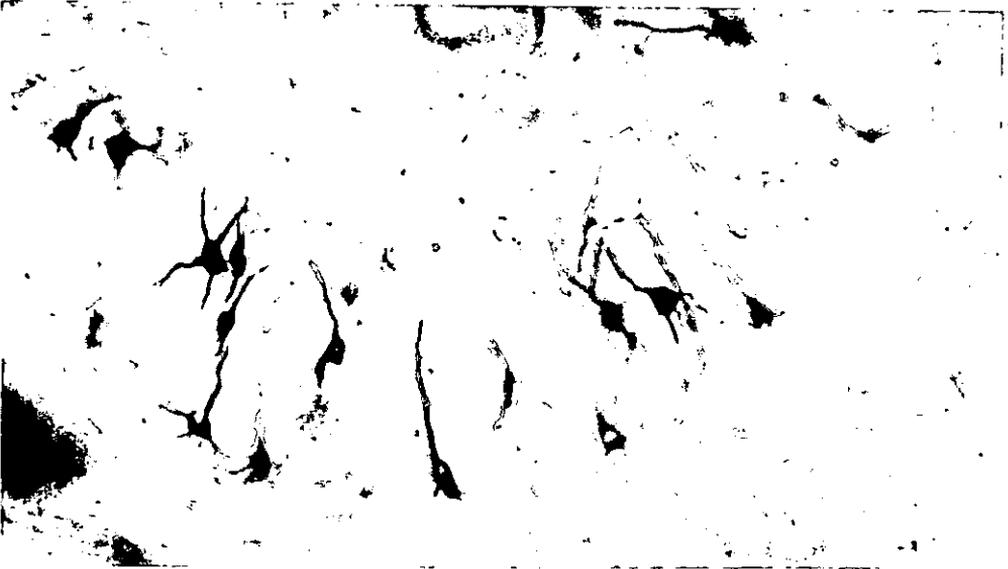
Los mecanismos que subyacen la histogénesis cerebral se producen en períodos de tiempo precisos y en una secuencia ordenada, la migración neuronal retardada provocará alteraciones en la citoarquitectura del SNC. Una alteración citoarquitectónica observada fue la presencia de elementos neuronales mal orientados e incluso totalmente invertidos en la neocorteza cerebral de las ratas del grupo experimental. Las neuronas piramidales tienen una orientación espacial que consiste en que su dendrita apical se orienta hacia el cráneo para alcanzar las capas más superficiales del cerebro, mientras que su axón se propaga hacia las capas más profundas y muchas veces sale de la corteza cerebral recorriendo distancias variables para comunicar unas zonas cerebrales con otras zonas dentro y fuera del SNC. Las neuronas piramidales de la neocorteza cerebral del grupo experimental estaban colocadas con diferentes grados de rotación que variaron desde neuronas normalmente orientadas, neuronas colocadas "horizontalmente" con su dendrita apical y su axón colocados en un plano perpendicular a la superficie cortical hasta neuronas totalmente invertidas, es decir con el axón orientado hacia arriba y la dendrita apical orientada hacia abajo. Esta alteración en la orientación espacial de las neuronas puede ocasionar interconexiones neuronales aberrantes y/o disfuncionales.

Una vez que las neuronas han migrado al lugar que ocuparán en el tejido nervioso deben diferenciarse y desarrollar las dendritas y axones que las comunicarán con otras neuronas u otros grupos neuronales, estas ramificaciones conforman el neurópilo. Las neuronas de la corteza cerebral, las neuronas de la capa de células piramidales del hipocampo y las células de Purkinje del cerebelo de las ratas intoxicadas con plomo mostraron menor desarrollo del árbol dendrítico y por lo tanto se puede inferir menor número de sinapsis con respecto al grupo testigo.

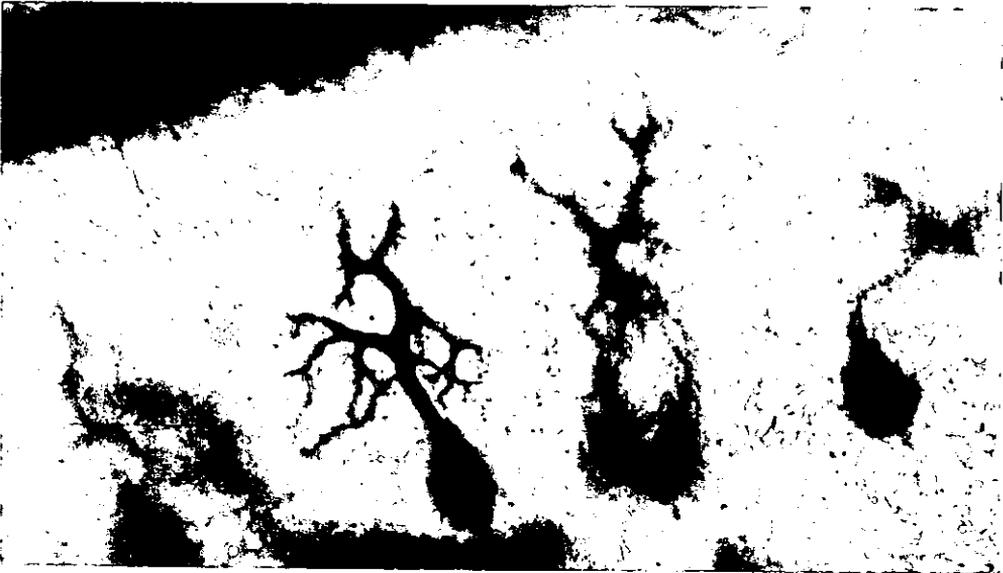
La mielinización de los axones permite que las neuronas tengan mayor velocidad de conducción de los potenciales de acción. Los cerebros de las ratas que ingirieron plomo presentaron retardo en la mielinización de sus fibras en el cerebro, lo cual constituye otro indicador de desarrollo retardado.

Otro hallazgo importante fue la presencia de edema en el tejido nervioso sobre todo en el cerebelo de las ratas que ingirieron plomo, sin embargo este hallazgo no se observó en todos los cerebros estudiados.

Todos estos hallazgos muestran que el plomo en etapas tempranas del desarrollo altera la estructura citoarquitectónica del encéfalo y afecta el crecimiento y desarrollo general del sistema nervioso central así como la sinaptogénesis neuronal.



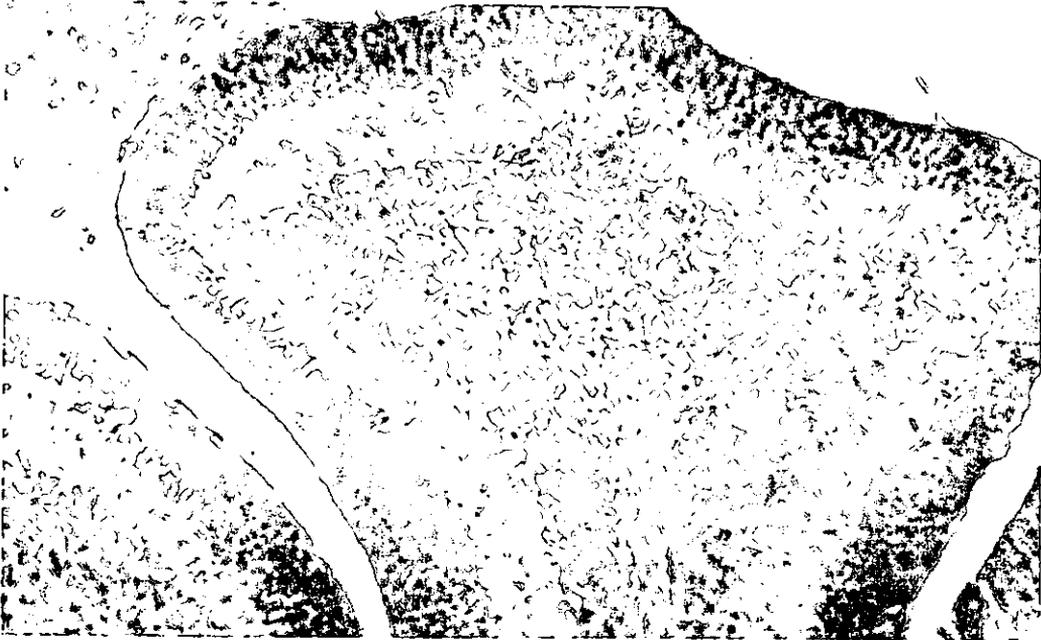
A. Células piramidales del hipocampo con escaso desarrollo del árbol dendrítico. Rata del grupo experimental de 10 días. Técnica de Golgi.



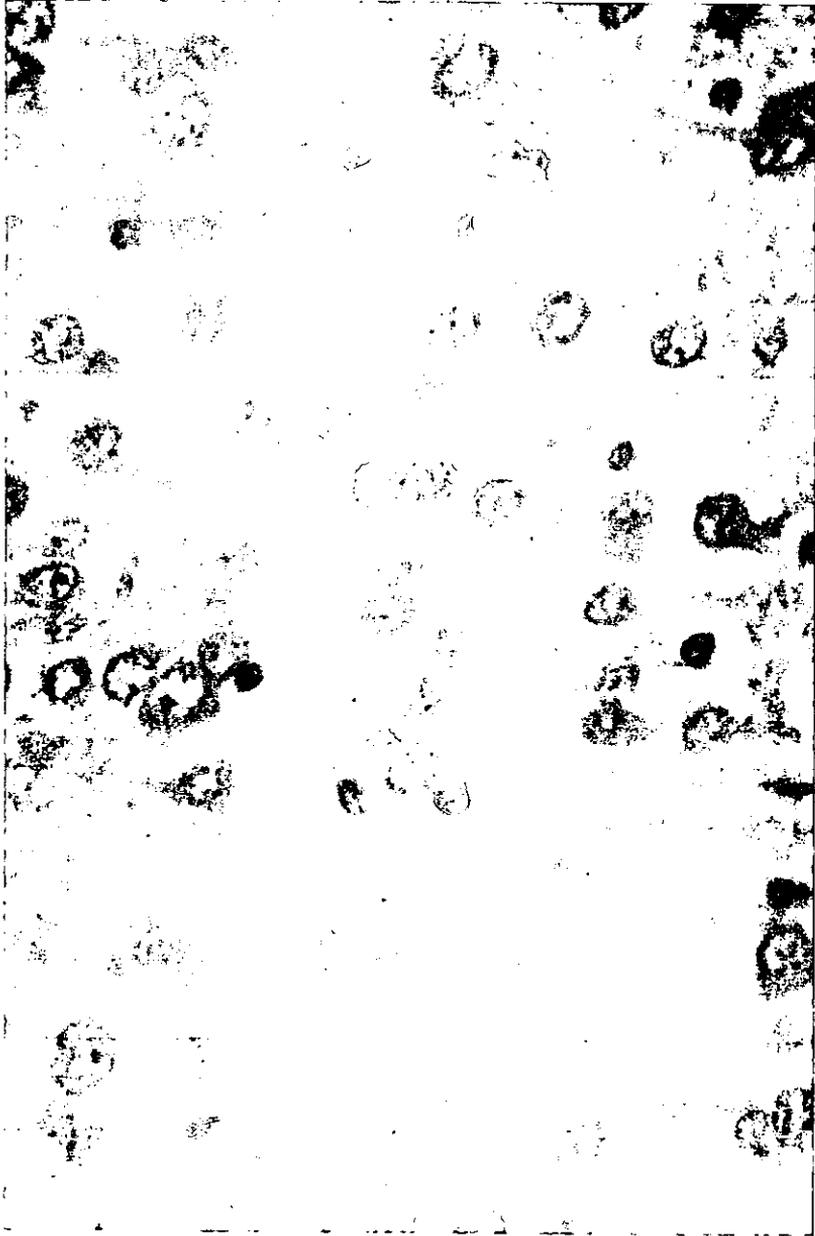
B. Célula de Purkinje en la corteza cerebelosa con retardo en el desarrollo del árbol dendrítico. Rata del grupo experimental de 10 días. Técnica de Golgi.



C. Persistencia de centro germinal periventricular. Rata del grupo experimental de 20 días. Técnica de HE.



D. Corteza cerebelosa con retardo en la migración de neuroblastos situados en la capa granular externa. Rata del grupo experimental de 20 días. Técnica de HE.



E. Neocorteza cerebral con neuronas invertidas producto de la migración neuronal defectuosa.

DISCUSION

DATOS GENERALES

El presente estudio trató de asemejar el problema de la ingestión de plomo que se da en la vida cotidiana, donde los organismos ingieren plomo a través del agua y los alimentos o lo inhalan sin tener una dosis constante y precisa de este metal, en este estudio solo se controló la concentración de plomo que se colocó en el agua y el organismo ingería la cantidad de líquido que quisiera o necesitara encontrándose los siguientes resultados en las ratas recién nacidas de madres que ingirieron acetato de plomo al 1% durante y después del embarazo. Los resultados se compararon con un grupo que sirvió como testigo, el cual no ingirió acetato de plomo.

Los hallazgos del presente estudio indican que el número de ratas nacidas no fue significativamente diferente entre ambos grupos, pero el grupo experimental presentó mayor índice de mortalidad en los primeros días postnatales con respecto al grupo testigo, se sabe que la ingesta de plomo durante el embarazo provoca malformaciones congénitas, retardo en el crecimiento, premadurez y muerte (Needleman et al., 1984; Lögberg et al., 1988). En el presente estudio solo se observaron casos de retardo en el crecimiento y muerte.

Los hallazgos de la reducción en la fertilidad de las madres del grupo experimental son congruentes con los resultados obtenidos en otros estudios que indican que el Pb afecta al gameto masculino y provoca alteraciones en el número, vigor y características morfológicas del espermatozoides en los organismos machos y en las hembras ocasiona dificultades en la implantación del óvulo fecundado y altera el ciclo estral (Hilderbrand et al., 1973; Varma, Joshi y Adenemi, 1974). En las ratas recién nacidas se presentaron casos de retardo en la madurez sexual, hecho ya descrito por otros autores (Varma, Joshi y Adenemi, 1974; Yu et al., 1996).

En las ratas del grupo experimental se observó disminución de la talla y peso corporal. En efecto, los animales del grupo experimental tuvieron desde recién nacidos un descenso significativo y consistente en el peso corporal y reducción en la talla, comparados con el grupo testigo, diferencia que se hace más evidente a

los 20 y 30 días postnatales; se sabe que el plomo puede provocar anemia y retardo en el crecimiento fetal y postnatal (Mateu, 1994). Estas alteraciones en el desarrollo físico, en el presente estudio, no impidieron el desarrollo de las conductas de nado y equilibrio en las ratas pero si alteraron el proceso de aprendizaje y la citoarquitectura del tejido nervioso.

PRUEBA DE EQUILIBRIO

Bhattacharya y colaboradores en 1995 reportaron que el plomo altera el equilibrio postural erguido y explicaron esas deficiencias como alteraciones en la integración sensorial vestibular más que como déficits debidos a alteraciones en los centros motores del sistema nervioso central. Needleman y colaboradores en 1990 reportaron que el plomo afecta la actividad motora fina como por ejemplo la requerida para realizar tareas de digitalización y coordinación mano-ojo. Otros estudios han reportado menor velocidad de conducción en los nervios periféricos y alteraciones en la liberación de acetilcolina en la placa neuromuscular (Chisolm, 1971; Moresco et al., 1988). En el presente estudio las ratas intoxicadas con Pb no tuvieron diferencias significativas en el tiempo requerido para recorrer una cuerda suspendida en el aire. Los resultados obtenidos pueden deberse a que la prueba utilizada no es lo suficientemente sensible para detectar cambios en la actividad motora además de que se requieren aparatos computarizados para detectar problemas posturales y motores que a simple vista pasan desapercibidos, o simplemente a que el plomo no altera la motricidad y el equilibrio a tal grado que imposibilite a los organismos para caminar o ejecutar otras actividades locomotoras sino que simplemente desorganiza el movimiento.

En monos se ha reportado que el plomo produce deficiencias para realizar esfuerzos motores vigorosos (Newland et al., 1996), en este estudio no se utilizaron aparatos para detectar deficiencias en la fuerza muscular, sin embargo, se observó que las ratas del grupo experimental si tenían la fuerza muscular suficiente para poder colgar de la cuerda con las dos patas delanteras.

En estudios *in vivo* se ha observado que los ganglios basales y la corteza motora parecen no ser afectados por el plomo (Silbergeld, 1992), lo cual es consistente con ausencia de efectos en la actividad motriz de origen central. Otra posible explicación de los resultados obtenidos es que las ratas intoxicadas tenían menos talla y peso corporal en comparación con las del grupo testigo, por lo que la

superficie de la cuerda en proporción con la talla corporal era mayor para las ratas del grupo experimental.

En este estudio no se determinó la concentración de plomo en la sangre ni en el tejido nervioso por lo que no es posible definir si en este estudio la ingestión de plomo resultó en altos o bajos niveles de concentración de este metal en los organismos. Estudios previos han reportado hiperactividad y disfunción cerebral mínima en niños intoxicados con plomo. Estos síndromes se presentan como casos de intoxicación plúmbica asintomática o con ausencia aparente de toxicidad en el SNC, sin embargo el estudio neuropsicológico minucioso demuestra que estos niños presentan conductas anormales como fatiga, inatención, distractibilidad, impulsividad y actividad sin propósito aparente (Shih y Hanin, 1978). En modelos animales se ha reportado incremento de la actividad motora, aumento de los movimientos estereotipados e incremento de la actividad basal como resultado de la intoxicación por plomo (Walsh et al., 1986). Sin embargo la hiperactividad inducida por la intoxicación por plomo no es un hecho uniformemente aceptado. Se ha propuesto que la hiperactividad es un efecto indirecto resultado de la desnutrición inducida por la exposición al plomo. Tomando en cuenta que las ratas experimentales de este estudio presentaron desnutrición existe la posibilidad de que pudieron haber sido hiperactivas lo que pudo reflejarse en el buen desempeño en la conducta de caminar por una cuerda floja, sin embargo no contamos con los datos empíricos de concentración de plomo en la sangre ni en el tejido nervioso para sustentar esta hipótesis.

PRUEBA DE NADO

En cuanto a la conducta de nado se encontró un aumento significativo en el tiempo requerido para salir del recipiente con agua de las ratas experimentales con respecto a las testigo. Este aumento se cree que fué debido a problemas en el proceso de aprendizaje y no a deficiencias en el desempeño motor o en la ontogenia de nado.

Se ha reportado que el plomo afecta los nervios motores de las extremidades, aparentemente porque provoca alteraciones en la vaina de mielina (Chrisolm, 1971). En este estudio las ratas eran colocadas en el recipiente y debían nadar hacia el otro extremo para localizar la escalera y poder salir del agua. El mayor tiempo empleado por las ratas experimentales era en la localización de la

escalera, tarea que involucra aprendizaje y memoria de claves espaciales y no en la velocidad de nado o alteraciones en la actividad motora en sí. Esta posibilidad se fortalece si se toma en cuenta que las ratas del grupo experimental no presentaron alteraciones motoras fuera del agua, caminaban normalmente, ninguna rata presentó temblores, pérdida del tono muscular ni parálisis de las extremidades, además la presencia de déficits motores hubiera también incrementado los tiempos de ejecución de la tarea de equilibrio en la cuerda suspendida en el aire e incluso hubiera impedido ejecutarla. Lo que se observó fué que las ratas intoxicadas con plomo nadaban erráticamente buscando la salida, por lo cual el mayor tiempo que emplearon en realizar esta prueba probablemente se debió a déficits en su capacidad de aprendizaje y memoria. Estos datos son consistentes con lo reportado en conducta en el laberinto de agua de Morris donde ratas adultas mostraron un incremento en el tiempo requerido para encontrar una plataforma escondida (Jett et al., 1997), sin embargo otros factores como alteraciones en la capacidad de orientación espacial también pudieron estar involucrados, lo que si se demuestra en este estudio es que el mayor tiempo empleado por las ratas del grupo experimental en salir del recipiente con agua no fué producto de deficiencias en la ontogenia de la conducta de nado ni en la incapacidad para nadar.

Otro hecho que apoya la posibilidad de que el mayor tiempo empleado por las ratas del grupo experimental para salir del recipiente con agua se debió a déficits en el proceso de aprendizaje es que la intoxicación por plomo se ha asociado con alteraciones tanto a nivel estructural como funcional del hipocampo, el cuál esta implicado en los procesos de memoria y aprendizaje. El plomo afecta al hipocampo estructuralmente interfiriendo con el desarrollo del neuropilo de las neuronas que lo conforman (Alfano y Petit, 1982; Kiraly y Jones, 1982) y disminuyendo el tamaño de esta estructura así como el de sus fibras eferentes (Alfano, LeBoutillier y Petit, 1982). Funcionalmente el plomo reduce la potenciación a largo plazo del hipocampo, la cual es crucial para los procesos de aprendizaje y memoria (Ishihara et al., 1995; Gilbert, Marc y Lasley, 1996).

En las dos pruebas conductuales se observó mayor variabilidad entre los resultados obtenidos por los sujetos del grupo experimental. Este hecho ya había sido reportado por otros autores como resultado de la intoxicación por plomo (Cory-Slechta y Thompson, 1979; Cory-Slechta et al., 1981), sin embargo no se ha

dado una explicación a este fenómeno. Una posible explicación para este hecho podrían ser las diferencias individuales en cuanto a la concentración que resulta de este metal en el organismos aún cuando hallan estado expuestos a iguales concentraciones de este metal. Se sabe que a diferentes concentraciones de plomo se presentan déficits conductuales diferentes y a veces opuestos, por lo que las concentraciones resultantes diferentes en cada individuo pudieran ocasionar alteraciones de conducta diferentes.

ESTUDIO HISTOLOGICO

El plomo es uno de los muchos factores que pueden alterar el desarrollo normal del encéfalo al entrar en contacto con el feto y bloquear y/o alterar los mecanismos que intervienen en la ontogenia lo cual puede traer como consecuencia cambios en la estructura cerebral.

Los hallazgos encontrados en este estudio en cuanto a la citoarquitectura del tejido nervioso, muestran alteraciones en el desarrollo del cerebro de las ratas del grupo experimental.

La producción de células nerviosas durante la histogénesis cerebral se lleva a cabo en los centros germinales de las zonas periventriculares en los hemisferios cerebrales (Jacobson, 1978). En el grupo experimental se observó persistencia de los centros germinales en las zonas periventriculares en el cerebro a edades en las que ya debían haber desaparecido, lo cual indica que la histogénesis cerebral se ve alterada por la presencia de Pb en el organismo, ya que en los cerebros del grupo testigo no se observó dicha persistencia. La persistencia de los centros germinales puede deberse a retardo en la proliferación celular y/o en la migración de los neuroblastos y estos déficits influyen en los otros dos mecanismos que intervienen en la formación de los elementos celulares del tejido nervioso que son la diferenciación celular y la muerte celular.

En el cerebelo también se observó migración celular retardada. En esta estructura ocurren tres migraciones durante la histogénesis, la primera migración la constituyen neuroblastos que se organizan en una capa cortical primitiva y neuroblastos que formaran los núcleos centrales del cerebelo, una segunda migración constituirá las células de Purkinje y la tercera migración la constituyen neuroblastos que parten de la corteza primitiva o capa granular externa hacia la profundidad del cerebelo siguiendo un patrón de "afuera hacia adentro" para

formar las células de Golgi tipo II, horizontales y en cesta de la capa granular. En el cerebelo de las ratas del grupo experimental hubo persistencia de la capa granular externa a la edad de 20 días, en los cerebelos del grupo testigo de esa misma edad la capa granular había casi desaparecido. En las ratas albinas se ha reportado que la capa granular externa desaparece entre los días 20-25 postnatal, al mismo tiempo que las dendritas de las células de Purkinje alcanzan la piamadre para conformar la capa molecular propia del cerebelo adulto (Jacobson, 1978). La persistencia de los centros germinales es un índice de retraso en la migración neuronal, retardo que puede alterar la organización citoarquitectónica, ya que estos procesos ocurren dentro de parámetros de tiempo precisos.

Una vez que las neuronas han migrado al lugar que ocuparán en el tejido nervioso deben diferenciarse y desarrollar extensiones celulares tales como dendritas y axones, las cuales permitirán que unas neuronas se comuniquen con otras neuronas o grupos neuronales para el cabal cumplimiento de las funciones cerebrales. En la rata se sabe que el incremento máximo en la conectividad neuronal ocurre entre los días 12 y 20 postnatal y se observa un incremento en la densidad cortical de axones e incremento en las sinapsis de la corteza (Jacobson, 1978). En las ratas del grupo experimental se encontró menor desarrollo del neurópilo a los 10, 20 y 30 días postnatales en las neuronas de diferentes regiones cerebrales como por ejemplo en las células piramidales de la corteza cerebral, en las células piramidales del hipocampo y en las células de Purkinje del cerebelo, lo cual implica que sus neuronas tienen escaso número de sinapsis, hecho que trae como consecuencia grave deficiencia en la recepción e integración de la información. Los cambios en las ramificaciones dendríticas son importantes dado que estos determinan el tamaño del campo receptivo de una neurona e influyen la transmisión de potenciales sinápticos al cuerpo celular. Se ha sugerido que el patrón de ramificación dendrítico y la cantidad de material dendrítico son bases morfológicas que modulan las características neurofisiológicas y conductuales de un individuo. Así por ejemplo la persistencia de los déficits estructurales observados en el hipocampo se espera que contribuyan a las alteraciones neuroconductuales asociadas a la exposición al plomo, ya que se sabe que el hipocampo desempeña un papel importante en el aprendizaje espacial y en la formación de memoria, además el hipocampo forma parte del sistema límbico el cual es uno de los principales organizadores de conducta. Así las alteraciones estructurales encontradas en el hipocampo

subyacen a algunos de los déficits conductuales observados en el organismo, tales como los problemas de aprendizaje, sin embargo, se sabe que existen otros mecanismos cerebrales que se alteran con la presencia de Pb como por ejemplo mecanismos neuroquímicos, por lo que no es posible determinar cual es la contribución de cada uno de ellos en la alteración observable conductual.

En cuanto a la organización de la neocorteza, en el grupo experimental se observaron neuronas mal orientadas e incluso totalmente invertidas, lo cual puede originar conexiones intemeuronales aberrantes, las cuales posiblemente serán disfuncionales. Estas conexiones pueden persistir y provocar alteraciones permanentes en el organismo.

El cerebro de los animales altricios como el de la rata y el ser humano sigue madurando después del nacimiento, uno de los factores de maduración lo constituye la mielinización de los axones. En el grupo experimental se observó retardo en la mielinización de las fibras en el cerebro lo cual traduce maduración retardada. Los déficits en la mielinización producen que la eficacia en la conducción de los potenciales de acción disminuya, al menos de velocidad. Este retardo en la mielinización puede ser consecuencia de la migración celular retardada de los oligodendrocitos, los cuales migran después de las neuronas.

En algunos cerebros del grupo experimental se observó edema, sin embargo este hallazgo no se presentó en todos los cerebros. La presencia de edema en el tejido nervioso de organismos expuestos al plomo ha sido relacionada con alteraciones en la barera hematoencefálica.

Estas alteraciones estructurales sugieren que el plomo afecta mecanismos que median el desarrollo normal del cerebro en cuanto a la organización de sus diferentes capas y en el establecimiento de las sinapsis que permitirán el funcionamiento del sistema, además de que altera el número de sinapsis y su eficacia una vez establecidas.

CONCLUSIONES

Los hallazgos de este estudio permiten llegar a las siguientes conclusiones:

La ingesta de agua con acetato de plomo al 1% provocó disminución en la talla y peso corporal de las ratas recién nacidas.

El desarrollo de la conducta de nado y equilibrio siguió su curso temporal y los animales que ingirieron plomo si desarrollaron ambas conductas.

La ingesta de plomo provocó que los sujetos del grupo experimental emplearan mayor tiempo para salir de un recipiente con agua, probablemente debido a problemas en el proceso de aprendizaje.

La ingesta de plomo no provocó alteraciones motoras que imposibilitaran a los organismos para mantener el equilibrio en una cuerda suspendida en el aire.

La ingesta de plomo no provocó diferencias significativas en el tiempo empleado por los sujetos del grupo experimental para recorrer una cuerda suspendida en el aire.

La presencia de plomo en el organismo alteró la histogénesis cerebral. El plomo provocó retraso en la migración celular y en la diferenciación celular. Alteró la orientación espacial de los elementos celulares y provocó deficiencias en la sinaptogénesis neuronal.

La ingesta de plomo alteró la sinaptogénesis en el hipocampo, estructura del sistema límbico que es importante en los procesos de aprendizaje y memoria. Así las alteraciones citoarquitectónicas del hipocampo pueden contribuir a los déficits en el proceso de aprendizaje observados en las ratas del grupo experimental, sin embargo hay que considerar la posible intervención de otras variables.

PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO

Si consideramos que el estudio de la intoxicación por plomo en el modelo de la rata ofrece numerosas ventajas para el análisis de los efectos de este metal sobre el desarrollo del SNC inmaduro, el trabajo puede continuarse al incluir equipo computarizado para detectar alteraciones conductuales que no son evidentes por observación directa y utilizar para el estudio ontológico cámaras fotográficas y de video.

Estudios futuros manejarán más grupos para el control y estudio de variables que pueden influir en los resultados; por ejemplo, el estado nutritivo y el sexo, así como tiempo de exposición y dosis variables. Estudios a largo plazo ayudarán para determinar si los efectos del plomo sobre los organismos en desarrollo persisten hasta la edad adulta o si gracias a la plasticidad del tejido nervioso se logran aminorar las deficiencias.

Por otro lado el presente estudio no incluyó métodos para detectar con precisión la cantidad de plomo en los tejidos, por ejemplo plomo en sangre, orina, pelo, huesos, dientes y otros. Esas determinaciones permitirán relacionar los niveles de plomo con el desempeño conductual si se considera a cada sujeto por separado y no al grupo en conjunto.

En cuanto al estudio histológico se empleará el estudio cuantitativo de neuronas y dendritas, para conocer datos numéricos de la reducción de esos elementos ocasionada por la ingestión de plomo. Así mismo debe estudiarse la influencia del plomo en la citoarquitectura de otras estructuras del sistema límbico y paralelamente establecer su relación conductual.

El uso de técnicas que incluyan inmuno-histoquímica, biología molecular y genética molecular serán también determinantes para detectar la magnitud del daño neuronal que el plomo ejerce sobre el tejido cerebral.

REFERENCIAS

- Alfano D, LeBoutillier J y Petit T. (1982). Hippocampal mossy fiber pathway development in normal and postnatally lead-exposed rats. *Exper Neurol*. 75: 308-319.
- Alfano D y Petit T. (1982). Neonatal lead exposure alters the dendritic development of hippocampal dentate granule cells. *Exper Neurol*. 75: 275-288.
- Alfano D, Petit T y LeBoutillier J. (1983). Development and plasticity of the hippocampal-cholinergic system in normal and early lead exposed rats. *Develop Brain Res*. 10: 117-124.
- Alkondon M, Costa A, Radhakrishnan V, Aronstam R y Albuquerque E. (1990). Selective blockade of NMDA-activated channel currents may be implicated in learning deficits caused by lead. *FEBS*. 261: 124-130.
- Al-Saleh Y, Mustafa A, Dufour L, Taylor A y Hiton R. (1996). Lead exposure in the city of Arar, Saudi Arabia. *Arch Environ Health*. 51: 26-32.
- Altmann L, Weinsberg F, Sveinsson K, Lilienthal H, Wiegand H y Winneke G. (1993). Impairment of long-term potentiation and learning following chronic lead exposure. *Toxicol Letters*. 66: 105-112.
- Angell N y Weiss B. (1982). Operant behavior of rats exposed to lead before or after weaning. *Toxicol Appl Pharmacol*. 63: 62-71.
- Aungst B y Fung H. (1985). The effects of dietary calcium on lead absorption, distribution and elimination kinetics in rats. *J Toxicol Environ Health*. 16: 147-159.
- Bellinger D, Leviton A, Wateraux C, Needleman H y Rabinowitz M. (1987). Longitudinal analyses of prenatal and postnatal lead exposure and early cognitive development. *N Engl J Med*. 316: 1037-1043.
- Benitez-Bribiesca, L. (1995). La apoptosis en la patogenia y el tratamiento de la enfermedad. *Gac Med Mex*. 131: 231-232.
- Bhattacharya A, Shukla R, Dietrich K, Bornschein R y Berger O. (1995). Effect of early lead exposure on children's postural balance. *Dev Med Child Neurol*. 37: 861-878.
- Bielarezyk H, Tian X y Suszkiw J. (1996). Cholinergic denervation-like changes in rat hippocampus following developmental lead exposure. *Brain Res*. 708: 108-115.

Bressler J y Goldstein G. (1991). Mechanism of lead neurotoxicity. *Biochem Pharmacol.* 41: 479-484.

Bull R, Lutkenhoff D, McCarty G y Miller R. (1979). Delays in the postnatal increase of cerebral cytochrome concentrations in lead-exposed rats. *Neuropharmacology.* 18: 83-92.

Buzzo A y Soria M. (1960). Toxicología. (5ª. ed.) Buenos Aires: López. pp 167-178, 535-538.

Campell J, Wooley D, Vijayan V y Overmann S. (1982). Morphometric effects of postnatal lead exposure on hippocampal development of the 15-day-old rat. *Develop Brain Res.* 3: 595-612.

Carroll P, Silbergeld E y Goldberg A. (1977). Alteration of central cholinergic function by chronic lead acetate exposure. *Biochem Pharmacol.* 26: 397-402.

Cahero, G. (1992). Evaluación de la neurotoxicidad del plomo en el sistema serotoninérgico de la rata. Tesis licenciatura. Facultad Química, UNAM. México. 82 pp.

Chisolm, J. (1971). Lead poisoning. *Sci Amer.* 224: 15-23.

Conradi N, Kalimo H y Sourander P. (1990). Cerebellar capillarization in lead-exposed suckling rats. *Acta Neurol Scand.* 81: 256.

Cintra L y Galván A. (1990). Influencia de los Nutrientes en el Desarrollo del Sistema Nervioso. pp 147-164. En: Salas, M. (ed). (1990). Aspectos Comparativos y Mecanismos de Regulación de la Ontogenia Neural. México: Graffiti. 347 pp.

Cory-Slechta D, Bissen S, Young A y Thompson T. (1981). Chronic postweaning lead exposure and response duration performance. *Toxicol Appl Pharmacol.* 60: 78-84.

Cory-Slechta D y Thompson T. (1979). Behavioral toxicity of chronic postweaning lead exposure in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 47: 151-159.

Cory-Slechta D, Weiss B y Cox C. (1983). Delayed behavioral toxicity of lead with increasing exposure concentration. *Toxicol Appl Pharmacol.* 71: 342-352.

Cory-Slechta D, Weiss B y Cox C. (1985). Performance and exposure indices of rats exposed to low concentrations of lead. *Toxicol Appl Pharmacol.* 78: 291-299.

Daniel, W. (1996). Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. México: Noriega. 878 pp.

Edelman, G. (1985). Molecular regulation of neural morphogenesis. pp 35-59. En: Edelman G, Gall E y Cowan M. (ed). Molecular Bases of Neural Development. New York: Neurosciences Institute Publication. 606 pp.

Fielding J y Russo P. (1977). Exposure to lead: sources and effects. *N Engl J Med*. 297: 943-945.

Finkelman, J. (1996). Phasing-out lead gasoline will not end lead poisoning in developing countries. *Environ Health Persp*. 104: 10-11.

Fjordingstad E J, Danscher G y Fjordingstad E. (1974). Hippocampus: selective concentration of lead in the normal rat brain. *Brain Res*. 80: 350-354.

Gilbert M, Marc C y Lasley S. (1996). Chronic developmental lead exposure increases the threshold for long-term potentiation in rat dentate gyrus in vivo. *Brain Res*. 736: 118-124.

Goldstein G y Ar D. (1983). Lead activates calmodulin sensitive processes. *Life Sci*. 33: 1001-1006.

Goldstein G, Asbury A y Diamond I. (1974). Pathogenesis of lead encephalopathy. *Arch Neurol*. 31: 382-389.

Goldstein, G. (1992). Developmental neurobiology of lead toxicity. pp 125-135. En: Needleman, H. (ed). Human Lead Exposure. Boca Raton, Florida: CRC Press, 290 pp.

Gutowski M, Altmann L, Sveinsson K y Wiegand H. (1997). Postnatal development of synaptic plasticity in the CA3 hippocampal region of control and lead-exposed Wistar rats. *Develop Brain Res*. 98: 82-90.

Hilderbrand D, Der R, Griffin W y Fahim M. (1973). Effects of lead acetate on reproduction. *Am J Obst Gynecol*. 115: 1058-1065.

Holtzman D, Olson J, DeVries C y Bensch K. (1987). Lead toxicity in primary cultured cerebellar astrocytes and cerebellar granular neurons. *Toxicol Appl Pharmacol*. 89: 211-225.

Ishihara K, Alkondon M, Montes J y Albuquerque E. (1995). Ontogenically related properties of N-methyl-D-aspartate receptors in rat hippocampal neurons and the age-specific sensitivity of developing neurons to lead. *J Pharmacol Exper Therape*. 273: 1459-1470.

Jacobson, M. (1978). Developmental Neurobiology. (2ª. ed.). New York: Plenum Press. pp 57-114.

- Jett D, Kuhlmann C, Farmer S y Guilarte T. (1997). Age-dependent effects of developmental lead exposure on performance in the Morris water maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 57: 271-279.
- Jett D, Kuhlmann C y Guilarte T. (1996). Intrahippocampal administration of lead (Pb) impairs performance of rat in the Morris water maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 57: 263-269.
- Kiraly E y Jones D. (1982). Dendritic spine changes in rat hippocampal pyramidal cells after postnatal lead treatment: a golgi study. *Exper Neurol.* 77: 236-239.
- Lacy, R. (1993). La Calidad del Aire en el Valle de México. (1ª. ed.). México: El Colegio de México. 87 pp.
- Landrigan P y Curren A. (1992). Lead a ubiquitous hazard. *Environ Res.* 59: 279-280.
- Lasley S, Polan-Curtain J y Armstrong D. (1993). Chronic exposure to environmental levels of lead impairs in vivo induction of long-term potentiation in rat hippocampal dentate. *Brain Res.* 614: 347-351.
- Linnamägi U y Kaasik A. (1995). Changes of local cerebral blood flow concomitant to lead-exposure in adult rabbits. *Acta Neurol Scand.* 92: 491-496.
- Livingston K y Escobar A. (1971). Anatomical bias of the limbic system concept. *Arch Neurol.* 24: 17-21.
- Lögdberg B, Brun A, Berlin M y Schütz A. (1988). Congenital lead encephalopathy in monkeys. *Acta Neuropathol (Berl).* 77: 120-127.
- López-Antunez , L. (1979). Anatomía Funcional del Sistema Nervioso. México: Limusa. 784 pp.
- López R, Torres L, Garrido F, Papaqui J, Palazuelos E y López M. (1996). Prevalence and determinants of lead intoxication in Mexican children of low socioeconomic status. *Environ Health Persp.* 104: 117-123.
- Markovac J y Goldstein G. (1988). Picomolar concentration of lead stimulate brain protein kinase C. *Nature.* 334: 71-73.
- Markovac J y Goldstein G. (1988). Lead activates protein kinase C in immature rat brain microvessels. *Toxicol Appl Pharmacol.* 96 : 14-23
- Mateu, S. (1994). Toxicología Médica. España: Doyma. 477 pp.

Mesch U, Lowenthal R y Coleman D. (1996). Lead poisoning masquerading as chronic fatigue syndrome. *Lancet*. 347: 1193.

Minnema D, Greenland R y Michaelson A. (1986). Effect of in vivo lead on dopamine release from superfused rat strial synaptosomes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 84: 400-411.

Minnema D, Michaelson I y Cooper G. (1988). Calcium efflux and neurotransmitter release from rat hippocampal synaptosomes exposed to lead. *Toxicol Appl Pharmacol*. 92: 351-357.

Mojdehi G y Gurtner J. (1996). Childhood lead poisoning through Kohl. *Am J Public Health*. 86: 587-588.

Molina G, Zuñiga M, Sánchez F y Garza R. (1979). Plomo: sus implicaciones sociales y efectos sobre la salud. *Gac Med Méx*. 115: 57-63.

Moorhouse S, Carden S, Drewitt P, Eley B, Hargreaves R, y Pelling D. (1988). The effect of chronic low level lead exposure on blood-brain barrier function in the developing rat. *Biochem Pharmacol*. 37: 4539-4547.

Moresco R, Dall'olio R, Gandolfi O, Govoni S, Giovine D y Trabucchi M. (1988). Lead neurotoxicity: a role for dopamine receptors. *Toxicology*. 53: 315-322.

Muñoz H, Romieu I, Palazuelos E, Mancilla T, Meneses F y Hernández M. (1993). Blood lead level and neurobehavioral development among children living in Mexico, City. *Arch Environ Health*. 48: 132-139.

Murphy K, Fox G y Kelly J. (1995). Influence of toxicants on neural cell adhesion molecule-mediated neuroplasticity in the developing and adult animal: persistent effects of chronic perinatal low-level lead exposure. *Toxicol Letters*. 82/83: 271-276.

Mykkanen H, Dickerson W y Lancaster M. (1979). Effect of age on the tissue distribution of lead in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol*. 51: 447-454.

Needleman H, Rabinowitz M, Leviton A, Linn S y Schoenbaum S. (1984). The relationship between prenatal exposure to lead and congenital anomalies. *JAMA*. 251: 2956-2959.

Needleman H, Shell A, Bellinger D, Leviton A y Allred E. (1990). The long-term effects of exposure to low doses of lead in childhood. *N Engl J Med*. 322: 83-88.

Newland M, Yezhou S, Lögberg B y Berlin M. (1994). Prolonged behavioral effects of in utero exposure to lead of methyl mercury: reduce sensibility to changes of reinforcement contingencies during behavioral transitions and in steady state. *Toxicol Appl Pharmacol.* 126: 6-15.

Newland M, Yezhou S, Lögberg B y Berlin M. (1996). In utero lead exposure in squirrel monkeys: motor effects seen with schedule-controlled behavior. *Neurotoxicol Teratol.* 18: 33-40.

Pellegrino L, Pellegrino A y Cushman A. (1979). A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain. New York: Plenum Press. 157 pp.

Quadri G y Sánchez L. (1992). La Ciudad de México y la Contaminación Atmosférica. México: Limusa. 316 pp.

Rajah T y Ahuja Y. (1996). In vivo genotoxicity of alcohol consumption and lead exposure in printing press workers. *Alcohol.* 13: 65-68.

Rakic, P. (1972). Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. *J Comp Neurol.* 145: 61-84.

Rosenzweig M y Leiman A. (1992). Psicología Fisiológica. México: Mc Graw Hill. 895 pp.

Schapiro S, Salas M y Vukovich K. (1970). Hormonal effects on ontogeny of swimming ability in the rat: assessment of central nervous system development. *Science.* 168: 147-151.

Shih T y Hanin Y. (1978). Chronic lead exposure in immature animals: neurochemical correlates. *Life Sci.* 23: 887-888.

Silbergeld, E. (1977). Interactions of lead and calcium on the synaptosomal uptake of dopamine and choline. *Life Sci.* 20: 309-318.

Silbergeld, E. (1992). Mechanisms of lead neurotoxicity, or looking beyond the lamppost. *FASEB.* 6: 3021-3026.

Silbergeld, E. (1992). Neurological perspective on lead toxicity. pp 90-103. En: Needleman, H. (ed). Human Lead Exposure. Boca Raton, Florida: CRC Press. 290 pp.

Siles, S. (1990). Concentración de plomo en mujeres embarazadas y su repercusión en el producto. Tesis especialidad de ginecología y obstetricia. Facultad de Medicina, UNAM. México. 38 pp.

Sosa J, Rodríguez A y Oscos J. (1997). Importancia de la determinación de plomo en la sangre. *Lab Med Chopo*. 6: 1-6.

Solliway B, Schaffer A, Erez A, Mittelman N, Pratt H y Yannai S. (1995). The effect of lead exposure on target detection and memory scanning differs. *J Neurol Sci*. 134: 171-177.

Sourander P, Conradi N y Lindh U. (1990). Accumulation of lead in the cerebellar white matter in lead-exposed suckling rats. A micro-PIXE study. *Acta Neurol Scand*. 81: 256.

Steller, H. (1995). Mechanism and genes of cellular suicide. *Science*. 267: 1445-1449.

Strauss, W y Mainwaring, S. (1990). Contaminación del Aire: Causas, Efectos y Soluciones. (1ª. ed). México: Trillas. 177 pp.

Thienes C y Haley T.(1964). Clinical Toxicology. (4ª. ed.). USA: Lea and Febiger. pp. 136-145, 346-347.

Thompson, C. (1995). Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*. 267: 1456-1462.

Ünderger U, Basaran N, Canpinar H y Kansu E. (1996). Immune alterations in lead-exposed workers. *Toxicology*. 109: 167-172.

Varma M, Joshi S y Adenemi A. (1974). Mutagenicity and infertility following administration of lead sub-acetate to swiss male mice. *Experientia*. 30: 486-487.

Waish T, Schulz D, Tilson H y Dehaven D. (1986). Acute exposure to triethyl lead enhances the behavioral effects of dopaminergic agonists: Involvement of brain dopamine in organolead neurotoxicity. *Brain Res*. 363: 222-229.

Yu S, Mizinga K, Nonavinakere V y Soliman K. (1996). Decreased endurance to cold water and delayed sexual maturity in the rat following neonatal lead exposure. *Toxicol Letters*. 85: 135-141.