

13  
24.

00346



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

LESIONES MICROSCOPICAS EXPERIMENTALES EN EL ENCEFALO  
DE RATAS ADULTAS INTOXICADAS POR ACETATO DE TALIO Y CON  
TRATAMIENTO POSTERIOR CON D-PENICILAMINA Y AZUL DE PRUSIA

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

**MAESTRIA EN CIENCIAS (BIOLOGIA CELULAR)**

P R E S E N T A :

**JUANA VILLEDA HERNANDEZ**

Director: Rosario Barroso-Moguel  
Dra. en Ciencias Médicas, Especialidad en Anatomía Patológica

MÉXICO, D.F.

1997.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

" MAS QUE ESCASEZ DE MEDIOS HAY MISERIA DE VOLUNTAD, EL ENTUSIASMO Y LA PERSEVERANCIA HACEN MILAGROS, LO EXCEPCIONAL ES QUE EN LUJOSOS Y BIEN PROVISTOS LABORATORIOS SOSTENIDOS POR EL ESTADO, UN NOVEL INVESTIGADOR LOGRE ENTRENARSE CON MEMORABLE HAZAÑA CIENTIFICA DESDE EL PUNTO DE VISTA DEL EXCITO, LO COSTOSO, LO QUE PIDE TIEMPO, BRIO Y PACIENCIA NO SON LOS INSTRUMENTOS, SINO DESARROLLAR Y MADURAR UNA APTITUD. A LO MÁS LA CRISIS ECONOMICA NOS CONDENARIA A LIMITAR NUESTRAS INICIATIVAS: A LIMITAR EL MARCO DE LA INDAGACIÓN. PERO ¿NO ES ESTO UNA VENTAJA? EN ESTE ASPECTO CABE DISTINGUIR DOS CIENCIAS: UNA DEPENDIOSA, ARISTOCRATICA, CUYO CULTO EXIGE TEMPLOS Suntuosos y Ricas Ofrendas, y OTRA BARATA, CASERA, DEMOCRATICA ACCESIBLE A LOS MAS HUMILDES PECULIOS. Y ESTA MINERVA DE LOS HUMILDES MUESTRASE SINGULARMENTE PROPICIA EN SU BONDAD, ACOGE MEJOR LAS FLORES DE LA MEDITACIÓN HAY ADEMAS, UN NOBLE ORGULLO UN NOBLE ORGULLO EN TRIUNFAR CON POBRES MEDIOS: EL ORGULLO DE LA ELEGANCIA Y LA SOBRIEDAD. POR OTRA PARTE NADA REALIZA MEJOR LA ENERGICA PERSONALIDAD DEL INVESTIGADOR DISTINGUIENDOLE EN LA CATERVA DE LOS TRABAJADORES AUTOMATICOS, QUE AQUELLOS DESCUBRIMIENTOS DONDE LA VOLUNTAD Y LA LOGICA DOMINAN EL MECANISMO Y PARA LOS CUALES EL CEREBRO ES CASI TODO Y LOS MEDIOS MATERIALES CASI NADA".

SANTIAGO RAMON Y CAJAL

## INDICE

<b>INTRODUCCION</b>	1
<b>ANTECEDENTES</b>	3
<b>II Descubrimiento del talio</b>	3
<b>II.a Propiedades físicas</b>	4
<b>II.b.Propiedades químicas</b>	4
<b>III Distribución del talio en la naturaleza</b>	4
<b>IV Usos del talio</b>	5
<b>V Toxicidad del talio</b>	6
<b>VI Propiedades tóxicas del talio</b>	7
<b>VII Absorción y excreción</b>	8
<b>VIII Síntomas de la taliotoxicosis</b>	9
<b>IX Terapia del talio</b>	13
<b>X OBJETIVOS</b>	21
<b>XI HIPOTESIS</b>	21
<b>XII MATERIAL Y METODO</b>	22
<b>XII.1 Animales</b>	22
<b>XII.2 Tratamientos de los animales</b>	22
<b>XII.3 Reactivos</b>	23
<b>XII.4 Procedimiento histológico</b>	24
<b>XII.5 Preparación de soluciones</b>	27
<b>XII.6 Análisis estadístico</b>	29
<b>XIII RESULTADOS</b>	30
<b>XIII.1 Síntomas observados</b>	30

<b>XIII.2 Observaciones microscópicas</b>	<b>32</b>
<b>Corteza Parietal</b>	<b>.32</b>
<b>Hipocampo</b>	<b>.39</b>
<b>Tálamo</b>	<b>.45</b>
<b>Cerebelo</b>	<b>.51</b>
<b>DISCUSION</b>	<b>.59</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>.67</b>
<b>APENDICE</b>	<b>.68</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>76</b>

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Neuromorfología Celular de la Unidad de Investigaciones del Sistema Nervioso del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "M. V. S." de la S.S., bajo la dirección de la Dra. Rosario Barroso-Moguel a quien agradezco profundamente por su apoyo, supervisión y dirección de este trabajo.

**Con profundo agradecimiento y gratitud a los miembros del jurado:**

**DRA ROSARIO BARROSO-MOGUEL  
DRA ELVIRA ESTRADA FLORES  
DRA MARCELA ESPERANZA AGUILAR MORALES  
DR. GERARDO HEBERT VAZQUEZ-NIN  
DR. MARIANO ENRIQUE CEBRIAN GARCIA  
M. EN C. CRISTINA MARQUEZ OROZCO  
DRA. MA. DEL CARMEN URIBE ARANZABAL**

**Por sus valiosos comentarios, el apoyo brindado y el tiempo que amablemente dedicaron a este trabajo.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Dra. Rosario Barroso-Moguel por su gran ayuda, consejos y comentarios para la realización de este trabajo**

**A el Dr. Camilo Rios por su invaluable ayuda que siempre me brindo**

**A Marisela, compañera incondicional de largas jornadas de trabajo, por su apoyo y comentarios a lo largo del desarrollo de este trabajo.**

**A las ingenieras del Laboratorio de Computo, especialmente a Veronica por su valiosa ayuda que siempre me brindo.**

**A Sonia, Abel y Laura por su gran y desinteresada ayuda**

**A Viktor por sus valiosos comentarios**

**Al personal que labora en el área de dibujo y fotografía por su colaboración en este trabajo**

**A todas las personas que de alguna u otra manera hicieron posible la realización de este trabajo**



## **D E D I C A T O R I A S**

**A mis padres con cariño, respeto y admiración y por estar siempre a mi lado en los momentos más importantes de mi vida.**

**Filemón y Flora**

**A Luis por compartir mis trabajos, mis angustias y mi felicidad en el desarrollo de esta carrera, así como apoyarme en la culminación de esta.**

**A mis hermanos: Martha, Lourdes, Celia, Susana, Fily y Ma. de Jesus, por su cariño y comprensión**

**Que para Florisel esto sea un estímulo y le sirva de ejemplo para su superación personal.**

**A mis sobrinos : Karen, Itsel, Tania y M. Antonio, que lo consideren como una motivación para que sean verdaderos hombres realizados.**

**A mis cuñados Bety y Tomás por su cariño, amistad y comprensión para conmigo**

**A toda mi familia, tíos, primos, sobrinos, porque de cada uno he tenido cariño y afecto.**

**A todos mis amigos y compañeros por su cariño**

## **INTRODUCCION**

Por mucho tiempo el hombre ha sido expuesto a diferentes sustancias tóxicas de origen vegetal y mineral, que se encuentran principalmente en la corteza terrestre, en bacterias, hongos, plantas y animales, así como también en numerosos productos industriales que se emplean en la agricultura, en las labores domésticas, como: limpiadores, pesticidas, cosméticos y depilatorios. El manejo inadecuado de estas sustancias ha causado la muerte e intoxicaciones graves, en poblaciones rurales y urbanas en el mundo.

Desde el siglo pasado se han reportado varios casos de intoxicación provocadas por diferentes metales, que inducen alteraciones neuronales específicas, como en algunas enfermedades degenerativas por ejemplo: el arsénico en la neuropatía periférica, el manganeso en el Parkinson, el plomo en casos de encefalopatía, el cobre en la enfermedad de Wilson y el talio en algunos casos de esquizofrenia, Parkinson, y epilepsia.

Se ha reportado que las intoxicaciones más antiguas en el hombre fueron provocadas por metales, como el talio, que fue utilizado en el tratamiento de enfermedades de alta incidencia, en casos de tuberculosis, disentería, gonorrea y sífilis, fué introducido en dermatología como depilador y para el tratamiento de la tiña.

El talio fue descubierto por Williams Crookes en 1861, por medio de un examen espectroscópico en donde vió una banda verde brillante a la que llamó talio, es un elemento químico que se ha extraído de productos naturales.

En 1920 se descubrió en Alemania y en Estados Unidos el uso del sulfato de talio en rodenticidas e insecticidas utilizado al 2 % al que llamaron "Zelio", con frecuencia produce en el hombre graves intoxicaciones accidentales, suicidas o criminales.

La exposición industrial y ocupacional al tóxico, durante la elaboración de productos en ingeniería electrónica, nuclear y óptica ha causado envenenamientos frecuentes, así como entre los agricultores que lo usan en plaguicidas e insecticidas.

El talio es un elemento soluble, que se absorbe por la piel y el tracto gastrointestinal, difundándose por la sangre en forma inmediata a todos los órganos y tejidos donde permanece por largos periodos, movilizándose desde los tejidos como: músculos y huesos hacia el cerebro, lo que origina secuelas a corto y largo tiempo.

La toxicidad del talio varía de acuerdo a la cantidad ingerida. En las intoxicaciones agudas, subagudas y crónicas, las manifestaciones clínicas son inicialmente de origen gastrointestinal, como: vómito, falta de apetito, faringoesofagitis, gastroenteritis, colitis y diarrea, seguidas de síntomas respiratorios, circulatorios, musculares y endocrinológicos, los más frecuentes e intensos son los neurológicos. En casos graves de intoxicación, la muerte se presenta en lapsos cortos de 5-7 días posteriores a la ingestión. El talio que ha entrado al organismo tiene una excreción inadecuada por riñones, glándulas salivales y sebáceas; se deposita en otros órganos, principalmente en el cerebro provocando ataques coreiformes, parkinsonismo, encefalopatías y temblor.

Debido a que la intoxicación de talio es un problema social muy importante, se han utilizado varios fármacos para eliminar rápidamente el tóxico del organismo. Los tratamientos son altamente controversiales, estos fármacos, potencialmente quelantes, se han usado experimentalmente en tratamientos con pacientes intoxicados con metales, que no han dado un resultado satisfactorio, porque al no aumentar la excreción permiten la redistribución del metal hacia el cerebro.

Sin embargo, se utiliza actualmente el hexacianoferrato II férrico potásico, que se conoce como azul de Prusia, considerado el antídoto más efectivo contra la intoxicación de metales, aunque su protección no es total, disminuye la redistribución del talio al aumentar la excreción del metal.

En el presente estudio se quiere investigar una alternativa terapéutica más eficaz en la intoxicación por talio empleando azul de Prusia y el quelante D-penicilamina que ha sido utilizado para la excreción de otros metales como el cobre, mercurio y plomo, ya que en su estructura presenta grupos sulfhidrilos por los cuales el talio también tiene afinidad.

## **ANTECEDENTES**

### **II. DESCUBRIMIENTO DEL TALIO**

El talio fue descubierto en 1861 por Williams Crookes cuando analizaba el procesamiento de obtención del ácido sulfúrico, mediante un examen espectroscópico en donde vió una banda verde brillante a la que llamó talio, (del Griego Tallos=Tallo) inspirado en el color que toma la vegetación en la provincia de Hartz, Alemania [14, 27].

Crookes clasificó a este metal en la familia de los sulfuros, pero Mendeleiev lo agrupó en el grupo III de la tabla periódica y se le otorgó el símbolo "Tl". Actualmente está incorporado en la familia de los metales del grupo III [14].

Lamy y Frenchman en 1862 redescubrieron nuevamente esa banda verde, lo que sirvió para estudiar las propiedades fisicoquímicas de este nuevo elemento aislado por Crookes, ya en grandes cantidades [27].

El talio lo encontramos en la corteza terrestre mezclado con varios minerales, como la pirita y en la producción del ácido sulfúrico [14, 27].

## **II.a Propiedades físicas**

Su número atómico es 81, su peso atómico es 204.39, su punto de fusión es de 303 °C, el punto de ebullición de 1.453 °C, tiene una densidad de 11.85 g/cm<sup>3</sup> a 20 °C, puede ser univalente o trivalente, siendo los compuestos más estables los de valencia +1 [14, 27].

Es un metal plateado de color grisáceo (10), tiene dos isótopos naturales con número de masa de 203 % y 205% el isótopo natural es <sup>204</sup>Tl, se considera el más importante con una vida media de 3.56 años [6, 14,27 ].

## **II.b Propiedades químicas del talio**

El talio es una sal soluble en agua y en soluciones alcalinas, se disuelve en el ácido sulfúrico al 25 % a 90 °C. En ácido nítrico se disuelve con rapidez formando una sal metálica univalente, en ácido clorhídrico se disuelve muy lentamente, formando en la superficie una capa de cloruro de talio. Las sales de talio se forman como compuestos bivalentes que se disuelven en ciertas proporciones de agua y a una determinada temperatura [27].

## **III. DISTRIBUCION DEL TALIO EN LA NATURALEZA**

Los descubrimientos de Crookes y Lamy estimularon a otros autores a continuar con la búsqueda de nuevos elementos, aportando conocimientos sobre las fuentes naturales del talio y estableciendo que es un elemento de distribución mundial [26, 52], encontraron que existe en pequeñas cantidades en rocas, suelos, cenizas, carbones, meteoritos, en el agua de algunos mares, ríos, manantiales y lagos, en algunas plantas y en la composición de algunos minerales magmáticos [6, 16, 45, 69, ].

La concentración del metal en la corteza terrestre es de .003 %, las rocas contienen  $6 \times 10^{-6}\%$ . El talio se encuentra asociado a minerales polimetálicos que en su composición química contienen litio, potasio, rubideo, cesio, etc. Entre los más abundantes se encuentran los silicatos (feldespatos y micas) y los minerales sulfurados (pirita, esfalerita y galeana), utilizados para la obtención del ácido sulfúrico. El contenido de talio en los minerales es de una a diez mil partes del volumen total de éstos [16].

El talio se ha encontrado en vegetales, como el humus de bosques de roble y haya [16], se han encontrado valores de 2.5 mg de talio en aguas de manantiales, ríos y en aguas marinas en concentraciones de 0.02 a 2.76 mg de talio/ litro [16, 27, 64].

#### **IV. Usos del talio**

Después del descubrimiento del talio se usó como agente terapéutico en el tratamiento de tuberculosis, enfermedades venéreas como sífilis, gonorrea, disentería, teniendo una gran popularidad como agente depilatorio y en el tratamiento contra la tiña en el cuero cabelludo. Las sales de talio también fueron usadas como pesticidas [65] y en cosméticos [53].

Debido a su alta toxicidad y a las propiedades inodoro e insaboro que presentan las sales de talio, en Alemania en 1920 se elaboraron insecticidas y rodenticidas que contenían principalmente sulfato de talio ( $Tl_2SO_4$ ) como ingrediente activo, incluyéndolo principalmente en el raticida comercialmente llamado "Zelio" que contiene sulfato de talio en un 2 % [53].

En 1959 se usaron las sales de talio en la Unión Soviética como antidetonante en el combustible de motores de combustión interna [6]. Actualmente el talio y

sus compuestos tienen una aplicación importante en ingeniería eléctrica porque se producen fotorresistencias, fotoceldas de alta susceptibilidad, semiconductores de calidad, fototriodos con sensibilidad al infrarrojo; por su alta resistencia y antifricción que presenta el metal se elaboran termopares, ánodos insolubles, contactos eléctricos y fusibles especiales [27, 28].

En electrónica es usado en instrumentos de graduación espectral involucrados en el control de películas de Rayos X, en la fabricación de electrodos de descarga y fluorescencia de lámparas de rayos ultravioleta, así como el isótopo radioactivo  $^{204}\text{Tl}$  se utiliza para elaborar generadores de radiación alfa [28].

En ingeniería nuclear se elaboran activadores y estabilizadores del proceso de luminiscencia en varios modelos de contador de centelleo [27, 28].

En óptica se elaboran cristales, prismas y lentes de bromuro de talio ( $\text{TlBr}_2$ ) y yoduro de talio ( $\text{TlI}$ ) que se utilizan en espectroscopía y microscopía. Experimentalmente el tricloruro de talio ( $\text{TlCl}_3$ ) en concentraciones pequeñas se ha empleado como antitumoral en ratas [6, 70].

## **V. TOXICIDAD DEL TALIO**

El uso del talio como agente terapéutico, en la elaboración de diferentes productos, el manejo inadecuado de rodenticidas e insecticidas que contienen sulfato de talio y la utilización de compuestos en la industria, han causado en el hombre graves intoxicaciones e incluso la muerte, en un lapso de 7 a 12 días por lo que se considera un problema de salud [53, 65, 74,78].

Desde su descubrimiento hasta principios de siglo se reportaron numerosas intoxicaciones por uso de sales de talio en el tratamiento de las diferentes enfermedades antes citadas por lo que se suspendió en la terapia médica [27, 57, 62].

La introducción del talio en depilatorios, cosméticos, pesticidas y rodenticidas en el año de 1920, incrementó considerablemente el número de intoxicaciones por accidentes, suicidios, y homicidios [63,57].

En las últimas tres décadas el mayor número de intoxicaciones reportadas han sido causadas por el raticida "Zello" que se ingiere accidentalmente o con fines suicidas [17, 66, 57]. Por lo cual ha sido prohibido en Estados Unidos desde 1965 y en muchos otros países [63,70].

El envenenamiento laboral, en la elaboración de los productos antes dichos que contienen talio, es de baja frecuencia [63,74].

## **VI. PROPIEDADES TOXICAS DEL TALIO**

El talio se ha considerado uno de los metales más tóxicos porque en concentraciones bajas provoca la muerte [39]. La dosis varía considerablemente de un caso a otro, para humanos se ha calculado que la dosis letal 50 (DL50) es de 8-12 mg/kg de peso y para roedores es de 30-32 mg/kg [1, 57].

La toxicidad del metal se debe a que el talio es muy similar al potasio y es capaz de reemplazarlo en muchas funciones celulares [10] así como a su interacción con los grupos sulfhidrilos [61], esto modifica la acción de la piruvato-cinasa, causando inhibición en las reacciones de la glucólisis, altera la acción de la ATPasa por lo que las mitocondrias sufren modificaciones ya que son ricas en esta enzima, el talio también disminuye la generación de ATP, produciendo inhibición en la fosforilación oxidativa, por otro lado produce un incremento en la actividad de la monoamino-oxidasa, esto desencadena un incremento en la serotonina, también causa una desestabilización progresiva y daño irreversible en los ribosomas por lo que se altera la síntesis proteica, inhibe los procesos fisiológicos de las fibras musculares, esto afecta la excitabilidad de las células del miocardio y se modifica el potencial de acción de las fibras



nerviosas [14,18, 19, 50], interfiere en el metabolismo de los aminoácidos que contienen azufre, modifica los residuos de cisteína, desencadenando una deficiencia de glutatión y proteínas enzimáticas, causando pérdida de peso, de cabello y en ocasiones la muerte [22,47,53,63].

## VII. ABSORCIÓN Y EXCRECIÓN DEL TALIO

Los compuestos monovalentes del talio: sulfato ( $Tl_2SO_4$ ), acetato ( $CH_3COOTl$ ), carbonato ( $Tl_2CO_3$ ), y Yodato ( $TlI$ ), son sales de talio solubles que se absorben rápidamente por el tubo gastrointestinal y la piel, [40], el metal se distribuye inmediatamente por todo el organismo [56].

El uso de técnicas histológicas, histoenzimáticas e histoquímicas han revelado la distribución del metal en animales de laboratorio reportando niveles de talio en el organismo, en concentración descendiente: riñón, intestino, tiroides, testículo, páncreas, piel, hueso, glándulas adrenales, músculo, bazo, pulmón, corazón, las concentraciones más bajas se encontraron en cerebro e hígado [47,57].

La mayor concentración de talio en el cerebro se alcanza a las 24 horas después de la administración a una solución de 32 mg/kg en forma de sulfato. Los niveles más altos se registran en el hipotálamo y los más bajos en corteza cerebral [57].

La eliminación del talio es lenta a través del riñón, glándulas sudoríparas y salivales [12,61], el talio se reabsorbe en un 60 % por los túbulos contorneados proximales y distales de las nefronas [12,21]. Al salir el talio de las células de los diferentes órganos se redistribuye nuevamente por todo el organismo aumentando la concentración en músculos y cerebro; se agravan los síntomas del individuo sobre todo los de origen neurológico y psiquiátrico [10,53].

## **VIII. SINTOMAS DE LA TALIOTOXICOSIS**

En las intoxicaciones agudas, subagudas y crónicas, por homicidio, suicidio y ocupacional, tanto en los niños como en adultos se encuentran alteraciones metabólicas originadas por la inhibición de ciertas enzimas, coenzimas y proteínas estructurales, causando cambios funcionales y estructurales de células, tejidos y órganos [53], que se manifiestan por lesiones gastrointestinales, pulmonares, vasculares, musculares y endocrinológicas [12,56], así como cambios conductuales; (disturbios emocionales, delirio, confusión, alucinaciones, amnesia, demencia, síndromes paranoides, alucinatorios, esquizofrenia) [53], los síntomas varían de un individuo a otro [10].

Los síntomas más evidentes en modelos experimentales de taliotoxicosis son: diarrea, anorexia, letargia, irritabilidad, conjuntivitis, debilidad y cianosis, acompañados de pérdida de peso, alopecia, alteraciones osteocondrales y neuronales [23,18].

### **VIII.1 ALTERACIONES EN EL SISTEMA NERVIOSO**

A través de investigaciones post-mortem y experimentales se ha demostrado una variedad de cambios morfológicos celulares inducidos por el talio. Mediante estudios con microscopía óptica y electrónica se observó que las mitocondrias son las más alteradas entre los organelos citoplasmáticos, causando lesiones en los diferentes tejidos y sistemas [47,53].

Las alteraciones neuropatológicas son degenerativas e irreversibles y se presentan en el cerebro, cerebelo, tallo cerebral, y médula espinal, cuyas neuronas se caracterizan por la pérdida de los grumos de Nissl, con pequeñas vacuolas, granulaciones citoplasmáticas, picnosis de muchas células, ausencia de células de Purkinje [53].

La sustancia blanca presenta edema inicial seguida de proliferación de las células gliales y desmielinización. En los capilares encefálicos existen cambios de sus membranas con edema y fibrosis de su pared [13, 53].

En el sistema nervioso periférico se producen cambios morfológicos en las células nerviosas motoras con cromatólisis, desmielinización y degeneración de fibras nerviosas [13].

## **VIII.2 RIÑÓN**

El análisis químico de la orina es fundamental, ya que desde el principio se altera, ayuda al diagnóstico y marca la evolución clínica de la intoxicación, hay albuminuria, hematuria, glucosuria, disminución parcial de la creatinina, presencia de leucocitos y eosinófilos en los tubos contorneados proximal y distal [22,53,57], con deterioro citoplasmático como: cambios degenerativos en las mitocondrias, proliferación de partículas electro-opacas y densas parecidas a glicógeno, vacuolas, cristales, dilatación y ruptura parcial del retículo endoplásmico [10,23,76].

## **VIII.3 GASTROINTESTINAL**

Las alteraciones gastrointestinales se manifiestan a las pocas horas de ingerido el talio con vómito, dolor, abdominal, hemorragia gastrointestinal, diarrea, algunos presentan anorexia y náusea persistente y estreñimiento intermitente. En revisiones microscópicas se encontró edema en la submucosa del intestino grueso, la enteritis se caracterizó por pocos leucocitos polimorfonucleares en algunas de las glándulas mucosas, infiltración linfocitaria en todas las capas del intestino grueso con marcado edema y desintegración de mitocondrias por vacuolización. En el intestino delgado también se observa degeneración

mitocondrial, ocasionando una disminución de mitocondrias en las diferentes capas con aumento de los cuerpos residuales [21,47,53].

#### **VIII.4 HIGADO**

El citoplasma de los hepatocitos presenta cuerpos residuales de naturaleza lipídica, con disminución del glucógeno en el citoplasma, dilatación del retículo endoplásmico liso, las mitocondrias presentan tumefacción y pérdida de crestas, con material electro-opaco [22, 47,77].

#### **VIII.5 PULMON**

Hay destrucción de la membrana alvéolo-capilar, con hemorragias y edema pulmonar subsecuente, muestra metaplasia en el epitelio bronquial, desarrollo del síndrome de insuficiencia respiratoria progresiva [27,47,53] y bronconeumonía prematura irregular [10].

#### **VIII.6 CARDIOVASCULARES**

Los intoxicados presentan taquicardia, pulso irregular, hipertensión, dolor precordial, arritmias cardíacas [61], cambios electrocardiográficos por lesión en el miocardio, debidas a que el talio tiene un efecto estimulante por incremento de catecolaminas [41]. También se encuentran alteraciones electrocardiográficas con inversión o depresión de las ondas T y prolongación del espacio QT [29,40,47, 53].

## **VIII.7 MANIFESTACIONES DERMATOLÓGICAS**

Son muy comunes aunque su aparición es tardía, éstas consisten en lesiones eritematosas, acneiformes, principalmente de aparición en la cara [23,29], se presenta anhidrosis por la inhibición de las glándulas sudoríparas, hay un aumento en la temperatura, diaforesis, resequedad en la piel con apariencia de escamas, se observa una pigmentación negra en la raíz del cabello, hay alopecia total incluyendo pelo axilar, pubiano, cejas y pestañas, en las uñas se observan semilunares de color blanco, llamadas líneas de Mees [47,53,63]. El pelo muestra una apariencia quebradiza y erizada, esto se debe a que el pelo contiene cisteína y grupos sulfidrilos y el tallo bloquea los aminoácidos que los contienen [16,53].

## **VIII.8 PERTURBACIONES MOTORAS**

Los músculos también revelan cambios degenerativos en las placas neuromusculares [10]. En algunos casos se han reportado parálisis parcial de extremidades con perturbación en la coordinación de movimientos o ataxia, y atrofia en el músculos esqueléticos, esto se debe a las lesiones del núcleo espinal y al sistema nervioso autónomo [53]. Temblor y parestesias generalmente de las extremidades inferiores, también se presenta corea y atetosis [53, 65,78].

## **VIII.9 POLINEUROMIOPATIA**

Los trastornos neurológicos son de dos tipos, las neuromiopatías periféricas, sensitivas y motoras con diversos grados de intensidad [53].

Otra consecuencia de la polineuropatía es la parálisis del diafragma con irritación y molestias respiratorias [53,78]. Hay alteraciones funcionales de los nervios vago y glossofaríngeos que ocasionan una parálisis bilateral, ronquera y perturbación en la ventilación, infecciones secundarias como neumonitis, gangrena y absesos pulmonares [40,53].

Los nervios ciático y sural tienen una imagen microscópica con axones fragmentados granulares y degeneración de las células de Schwann asociadas a macrófagos [10], debido a la formación de vacuolas mitocondriales lo que causa retracción secundaria en la mielina en los nodos de Ranvier y produce desplazamiento axonal [29,78]. Las fibras musculares se atrofian y necrosan, pierden su estriación y se hacen hialinas.

En estudios experimentales en ratas, se observaron otras alteraciones en, huesos, hígado, testículos y ovarios [10], páncreas sobre todo en los islotes de Langerhans, glándulas adrenales y tiroides [53].

## **IX. TERAPIA DEL TALIO**

Para el tratamiento de la intoxicación con talio se han utilizado diversos medicamentos como antidotos con resultados terapéuticos controvertidos [70] y en muchos casos peligrosos, sobre todo aquellos que actúan como quelantes ya que en su mayoría provocan remoción del talio de los tejidos y lo redistribuyen

concentrándolo en el cerebro, con lo que pueden causar o incrementar el daño neurológico [70,71].

La terapia del envenenamiento de talio tiene como objetivo reducir los niveles del metal para disminuir los signos y síntomas de la intoxicación e impedir la dolorosa muerte del individuo.

Hasta el momento no existe una sustancia que sea capaz de neutralizar el talio de los tejidos y órganos, principalmente del cerebro [47, 53].

Debido a la afinidad que tiene el talio por los sitios específicos de potasio y por los grupos sulfhidrilos, se han buscado métodos de mayor efectividad en la taliotoxicosis humana, los cuales consisten en el uso de sustancias quelantes a nivel de tejidos y tracto intestinal [40], provocando su excreción acelerada por lo que se han evaluado con mayor detalle algunos de estos compuestos.

### **IX.1 DIETILDITIOCARBAMATO (Ditiocarb).**

En estudios realizados in vitro se demostró que el ditiocarbamato es un quelante de talio, sin embargo se ha observado que al utilizarlo en pacientes intoxicados con talio tienen cambios electroencefalográficos con pérdida de la conciencia [31] y causa una redistribución que incrementa el talio en el cerebro, esto se debe a que se forma quelato lipofílico, aunque se ha observado su acción diurética con mayor excreción en la orina [63].

Por estas razones el dietilditiocarbamato no se recomienda en la terapia de la intoxicación por talio [ 63, 70,71].

## **IX.2 DIFENILTIOCARBAZONA (Ditizona)**

La ditizona forma un complejo con el talio, de baja toxicidad que incrementa la excreción urinaria del metal en un 75 % y protege a las ratas intoxicadas en un 100 % [35]. sin embargo la formación del complejo no se ha evidenciado in vivo ya que la quelación del talio in vitro, requiere de un pH entre 9 y 10. Los resultados en humanos han sido controvertidos porque sólo presenta una ligera mejoría sin que haya un incremento del talio en orina [12,66]. Paulson y col. en 1972 [52] informan un incremento en la sintomatología posterior a la administración con ditizona.

Estudios en animales tratados con ditizona revelan que se puede inducir la producción de diabetes [29] y efectos goitrogénicos [28].

No se recomienda este fármaco en la terapia de la taliotoxicosis debido a sus efectos respiratorios y neurológicos que manifiesta en el individuo [28, 40]

## **IX.3 POTASIO**

El potasio incrementa la excreción del talio en orina en un 50 % [12,62]. Las investigaciones en ratas y perros demuestran que las tasas de excreción de talio por orina y el DL50 se incrementa a medida que aumenta el potasio en la dieta, debido a que hay una interacción entre el potasio y el talio y que se puede explicar mediante dos mecanismos:

- a) El potasio inhibe la reabsorción del talio en los túbulos renales
- b) La adición del potasio moviliza al talio de los compartimientos celulares y causa un incremento en plasma y orina [12]. El aumento en la concentración de talio en plasma causa una redistribución en el cerebro [70,71]. Por este motivo



algunos autores sugieren que el potasio debe usarse cautelosamente en la talioxicosis especialmente en casos crónicos [63,66,70].

#### **IX.4 DIMERCAPROL (BAL)**

El dimercaprol se usó en el tratamiento de la talioxicosis, pero no con muy buena efectividad, porque en pacientes tratados con este fármaco no se incrementa la excreción del talio en la orina, no se encontró una correlación entre la cantidad de talio, los síntomas y la concentración de talio en sangre y en orina [10,17,63]. Aunque posee dos grupos sulfhidrilos no se recomienda clínicamente [72, 76].

#### **IX.5 YODURO DE SODIO**

Se ha utilizado en lavados gástricos, actúa formando un complejo con el talio y ayuda a incrementar su eliminación en la orina, este sólo se usa si no hay azul de Prusia [69].

#### **IX.6 D-PENICILAMINA**

La B-dimetilcisteína (D-penicilamina) es un agente quelante que contiene un grupo sulfhidrilo en su estructura, se utiliza en la enfermedad de Wilson (degeneración hepatolenticular) y en casos de intoxicación por metales: como plomo, cobre y mercurio [7]. Smith y colaboradores en 1964<sup>65</sup> administraron D-penicilamina por vía intravenosa a una dosis de 750 mg por día durante 5 días, sin observar ningún cambio en la excreción de talio en orina, debido a esto ya no

se recomienda en el tratamiento de esta intoxicación, sin embargo Montoya y colaboradores en 1979<sup>44</sup>, administraron D-penicilamina en dosis de 50 mg por día en tres tomas durante 5 días, a pacientes con intoxicación aguda y crónica, en los que se describen alta eliminación del metal por vía urinaria y la desaparición de los síntomas. Juárez y col. en 1988<sup>29</sup> administraron D-penicilamina a una dosis de 50 mg por día dividido en tres tomas por sonda nasoyeyunal durante 5 días, posteriormente se agregó azul de Prusia a la dosis de 250 mg por día, por la misma vía de administración, debido a las altas concentraciones del tóxico en el líquido yeyunal se procedió a realizar una diálisis peritoneal, obteniendo una mejoría clínica ya que se logra una disminución del metal en sangre, orina y líquido yeyunal evitando secuelas neurológicas importantes.

La efectividad de la D-penicilamina se debe a que este fármaco contiene en su molécula átomos donadores de electrones como el azufre con el que se une el talio por su alta afinidad en forma covalente para formar un complejo estable D-penicilamina-Talio, el cual se elimina fácilmente por la orina [43].

Cabe mencionar que la eficacia de la D-penicilamina aislada no ha sido verificada experimentalmente

## **IX.7 AZUL DE PRUSIA**

El azul de Prusia es una red cristalina de Hexacianoferrato (II)-Férrico-Potásico  $[\text{FeK} \{ \text{Fe}(\text{CN})_6 \}]_6$ , capaz de intercambiar iones metálicos univalentes [32]. En varios estudios en humanos y animales, se demostró que el azul de Prusia impide la absorción del talio [47,38,39], por lo que se consideró como el antídoto más apropiado contra la intoxicación de este metal [9]. La efectividad del azul de Prusia se debe a que inhibe la circulación entero-hepática formando el complejo TL+AP que se absorbe en tracto gastrointestinal y se

elimina por heces fecales y alrededor de un 7 % de azul de Prusia es degradado a cianoferrato y es eliminado rápidamente por la orina [25,31,47]. Además se observa una disminución favorable en el tejido cerebral, cuando se emplean dosis de 50 mg/kg [56]. El azul de Prusia inhibe la reabsorción del talio en el intestino en un 70 %, los pacientes intoxicados por este metal responden favorablemente a este tratamiento [29, 40,66,74]. Se recomienda la aplicación de dosis altas de azul de Prusia (250 mg/kg) que dan una mayor efectividad [68].

Las características de la administración oral son: alta estabilidad en el intestino, falta de absorción a través de la mucosa intestinal, alta adsorción del metal inducida por la partícula para formar el complejo azul de Prusia-talio, hacen que el hexacianoferrato II de hierro y potasio se considere como el agente más efectivo contra la intoxicación por talio [60,70]. A pesar de que la OMS lo considere un fármaco esencial y recomendado contra la taliotoxicosis humana; el azul de Prusia no es distribuido en el país como medicamento sino como colorante [60].

## **IX.8 CARBÓN ACTIVADO**

El carbón vegetal activado se usa en repetidas dosis después de la ingestión de talio. Los estudios en ratas revelan un aumento de excreción del metal por heces fecales en un 82 % [34,35,14]; se recomienda en la terapia humana; sin embargo no existen estudios confiables que evalúen al carbón activado para que se aplique en esta terapia, pero debido al grado de efectividad que tiene y que

interrumpe el ciclo entero-enteral del talio en el intestino, se ha propuesto como agente terapéutico cuando no se tiene azul de Prusia [70].

## **IX.9 OTROS MEDICAMENTOS**

Se han empleado otras sustancias en la terapia de la talioxicosis, no existen antecedentes experimentales y terapéuticos confiables, en los que se conozca su mecanismo de acción. La utilización de estas sustancias en las que se incluyen sedantes, analgésicos, anticonvulsivos y vitaminas, con propiedades quelantes, basándose en ciertos síntomas que se manifiestan en el individuo intoxicado [70].

### **IX.9a PILOCARPINA**

Se ha aplicado en humanos para promover la excreción de talio a través de las glándulas salivales [65], pero no hay una evidencia experimental que apoye esta terapia.

### **IX.9b CISTINA**

Incrementa la excreción renal del talio en ratas y las protege en casos crónicos [35]. Experimentalmente se ha comprobado que la cistina y la metionina no protegen a los animales intoxicados en forma aguda, aún no hay evidencias clínicas que apoyen el uso de estos agentes [65].

## **IX.9c ACIDO ETILENDIAMINO-TETRAACETICO (EDTA)**

Es un agente incapaz de eliminar el talio, en la terapia clínica no se observa ninguna mejoría sintomatológica, ni incremento en la excreción urinaria [12,35, 65].

## **IX.10 OTROS TRATAMIENTOS MEDICOS**

### **IX.10a DIURESIS FORZADA**

La diuresis forzada incrementa la eliminación de talio [73], cuando se usa furosamida y manitol en combinación con hemodiálisis da buenos resultados eliminando hasta un 43 % del talio, por lo que se recomienda en casos agudos [40,70].

### **IX.10b HEMOPERFUSION**

Es un procedimiento muy efectivo en la eliminación de talio absorbido, el flujo de sangre en promedio es de 150 ml/min., cuando se alterna con hemodiálisis preparado con carbón activado durante el tratamiento terapéutico [40], presenta un flujo fr 50.2 L/min [3], e incrementa la eliminación del talio sistémico, esta terapia se utiliza en caso de emergencia, cuando no se tiene ninguna otra mezcla más efectiva [63].

### **IX.10c DIALISIS PERITONEAL**

Presenta niveles bajos de excreción por lo que no se emplea con frecuencia en esta intoxicación [40].

## **X. OBJETIVOS**

Estudiar las lesiones que se producen experimentalmente en la corteza parietal, hipocampo, tálamo y cerebelo de ratas adultas sacrificadas a las 24, 48, 72, horas, y 7 días después de una inyección de talio a una dosis de 32 mg/kg de peso.

Evaluar los daños neuronales en las zonas del encéfalo ya mencionadas, causados por la intoxicación con acetato de talio y analizar los cambios que se producen por el efecto del tratamiento con la D-penicilamina y el azul de Prusia.

## **XI. HIPOTESIS**

El azul de Prusia combinado con D-penicilamina al reducir la cantidad de talio libre y su redistribución en el cerebro, disminuye las lesiones neuronales de la corteza parietal, del hipocampo, del tálamo y del cerebelo.

## **XII. MATERIAL Y METODO**

### **XII.1- Animales**

Se utilizaron 80 ratas adultas cepa Wistar con un peso promedio de 250-300g. procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Los animales permanecieron en cajas de propileno con cama de viruta y tapas de alambre a temperatura ambiente de 21 y 22 °C, con una humedad relativa de 40 % y un ciclo de 12 horas luz-oscuridad, se les administró comida y agua *ad-libitum*.

### **XII.2 Tratamientos de los animales**

Todas las ratas recibieron 1 inyección intraperitoneal (ip) en la parte baja del abdomen de acetato de talio a una dosis de 32 mg/kg disuelto en agua desionizada. Los tratamientos en su caso fueron administrados, 24 horas después de la inyección de acetato de talio, dos veces al día (a las 10:00hrs y 18:00hrs) durante 5 días, posteriormente se formaron 4 grupos :

**El Grupo "C"** o control, sólo fué inyectado con acetato de talio.

**Grupo AP** : después de recibir la inyección de acetato de talio fué tratado con un ml de solución de azul de Prusia, por vía oral mediante una sonda gástrica, a una dosis de 50 mg/kg, suspendida en tween 80 al 1 %.

**Grupo DP:** se le inyectó acetato de talio y posteriormente un ml de solución de D-penicilamina, por vía intraperitoneal a una dosis de 25 mg/kg, disuelta en agua destilada.

**Grupo AP+DP:** recibió una inyección de acetato de talio, 24 horas después se le administró 1 ml de azul de Prusia por vía oral y 1 ml de D-penicilamina por vía intraperitoneal a las dosis mencionadas en los grupos anteriores.

### **XII.3 REACTIVOS**

El hexacianoferrato II férrico potásico (azul de Prusia) se obtuvo de los compuestos que sintetiza la UAM-X (Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco). El acetato de talio, la D-penicilamina se adquirieron de Sigma Chemical Company (St Luis MO. USA).

Como disolventes para la preparación de las soluciones de antidotos y vehículos se utilizó solución salina fisiológica y agua desionizada.

#### **Solucion de acetato de talio**

Se pesaron 1.31 g. de acetato de talio y se obtuvieron en 100 ml. de agua desionizada, 1 ml de esta solución se le inyectó a un animal de 250 g de peso se obtuvo una dosis de 32 mg/kg

#### **Solución de tween**

Un gramo de tween 80 se diluyó en 100 ml de agua desionizada para obtener una solución de tween al 1 %.

#### **Azul de Prusia**

Se pesaron 2.5 g de azul de Prusia y se aforó a 100 ml de tween al 1 % la administración de 1 ml. de esta solución a una rata de 250 g. de peso se obtuvo una dosis de 100 mg/kg.



### **D-penicilamina**

Se pesaron 1.250 g. de D-penicilamina, se disolvió en 10 ml de agua desionizada, la inyección de 1 ml de esta solución inyectada a un animal de 250 g. de peso se obtiene una dosis de 50 mg/kg.

### **XII.4 Procedimiento histológico**

De cada grupo de ratas formado por 20 individuos se dividieron en 4 grupos de 5 especímenes, se anestesiaron a los siguientes intervalos 24, 48, 72, horas y 7 días con 0.3 ml a 3.5% de hidrato de cloral ip se perfundieron por vía intracardiaca con solución salina 0.9%, seguidas de formaldehído al 10%, (preparada con agua destilada y formaldehído QP 37%) a una presión de 10.81 Kpa, se realizó la disección de la masa encefálica y se fijó en formol al 10% durante 15 días, la mitad de los cerebros se cortaron en sentido longitudinal (la otra mitad se quedó en formol para estudios posteriores), se lavaron en agua corriente durante 4 horas hasta que fue eliminado el formol, se enjuagaron en agua destilada y se deshidrataron en alcoholes graduales (60°, 70°, 80°, 96°, absoluto dos cambios) por una hora cada uno, se pasaron a alcohol-xilol (uno: uno), y finalmente a dos baños de parafina por una hora cada uno y se realizó la inclusión en parafina para formar los bloques, se hicieron cortes de 5-7µ de espesor.

**A.-** Para el examen histológico los cortes se adhirieron en los portaobjetos, con gelatina líquida (para métodos de plata se usó concentrada al doble de lo que se usa para los métodos de anilina) y se dejó secar a temperatura ambiente.

**B.-** Se desparafinaron los cortes en dos cambios de xilol de 20 min. cada uno

**C.-** Se hidrataron los cortes en alcoholes graduales; alcohol absoluto durante 3 min; alcohol del 96° por 3 min.; alcohol del 70 por 3 min. y agua destilada por 3 min.

#### **XII.4.1 Doble impregnación argéntica simple en caliente de Pío del Rio-Hortega.**

Una vez que se hicieron los pasos A, B y C las laminillas se pasan a una solución acuosa de nitrato de plata al 10%, bien cubiertos a temperatura ambiente de 24-48 horas hasta que tomaron color tabaco claro. Se lavaron en agua destilada 3 veces de 3 minutos cada vez. Se pasaron las laminillas a una solución de carbonato de plata amoniacal se agregaron tres gotas de piridina para impedir la formación de precipitados y se guardaron en la oscuridad a temperatura del laboratorio durante 24 horas hasta que tomaron color tabaco oscuro. Posteriormente se lavaron en agua destilada por un minuto moviendo suavemente la caja para evitar el desprendimiento del tejido. Se redujeron en formol al 10 % durante 5 min. en frío. Se lavaron rápidamente dos veces en agua destilada. Se pasaron a alcohol del 70° por dos minutos, finalmente se deshidrataron en alcoholes graduales, se aclararon con xilol y se cubrieron con resina sintética para las observaciones microscópicas.

#### **XII.4.2 Impregnación argéntica simple en frío de Pio del Rio-Hortega**

Después de los pasos A, B y C los cortes se pasaron a una solución de carbonato de plata amoniacal, se agregaron 3 gotas de piridina durante 24 horas a temperatura ambiente. Se redujeron en formol al 1% donde los cortes tomaron un color tabaco oscuro. Se lavaron rápidamente en agua destilada para evitar el desprendimiento. Posteriormente se deshidrataron en alcoholes graduales (70°, 96°, absoluto). Se aclararon con xilol y se cubrieron con resina sintética para los estudios microscópicos .

#### **XII.4.3 Método de Masson**

Una vez realizados los pasos A,B, y C, las laminillas se pasaron a una solución de Bouin durante toda la noche a temperatura ambiente. Se lavaron en agua corriente hasta que el color amarillo desapareció, posteriormente se enjuagaron en agua destilada y se pasaron a la solución de hematoxilina férrica de Weigert durante 15 min; se lavaron en agua corriente por 10 min. para virar a la hematoxilina (agitando suavemente y cambiando el agua). Se enjuagaron en agua destilada y se pasaron a una solución de fucsina escarlata por 15 min. Se enjuagaron en agua destilada 3 veces y se pasaron a la solución de ácido fosfomolibdico y fosfotúngstico de 10-15 min. Se pasaron a la solución de azul de anilina por 12 min. Se lavaron en agua destilada 3 veces durante 5 min. se pasaron a una solución acuosa de ácido acético al 1% de 3-5 min. Se deshidrataron en alcoholes graduales (70°, 96°, absoluto y xilol 2 cambios). Se cubrieron con resina sintética para la revisión microscópica.

#### **XII.4. 4 Método de Feulgen**

Después de los pasos A, B y C, las laminillas se pasaron a una solución de ácido clorhídrico 5 N a temperatura ambiente por 1 hora. Posteriormente se pasaron al reactivo de Schiff por 30 minutos. Se lavaron en agua corriente por 15 minutos, después se enjuagan con agua destilada. Se deshidrataron en alcoholes graduales (70°, 96° y absoluto). Se aclararon con xilol y se cubrieron con resina sintética para los estudios microscópicos.

#### **XII.4.5 Método de Hematoxilina-Eosina**

Después de los pasos A,B,C, los cortes se pasaron a hematoxilina de Harris por 10 min. posteriormente se lavaron en agua corriente por 3 min., se enjuagaron en agua destilada y se pasaron a una solución de carbonato de litio. Se lavaron en agua destilada, se pasaron a alcohol 70°, se tiñeron con eosina por 2 min.se lavaron en alcohol 70°, se deshidrataron en alcoholes graduales ( 96°, absoluto, alcohol-xilol 2 cambios), se aclararon con xilol, y se cubrieron con resina.

#### **XII.5 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.**

##### **Carbonato de plata amoniacal**

Se pesaron 2.5 g. de nitrato de plata en 9.37 ml. de agua destilada, se agregaron 75 ml. de carbonato de sodio al 5%, se agitó suavemente y se agregó poco a poco unas gotas de amoniac hasta que perdió el color amarillo y se transparentó y sólo quedaron algunos grumos en el fondo.

### **Solución de Bouin**

75 ml de solución acuosa saturada de ácido picrico

25 ml de formaldehído (37-40%)

5 ml de ácido acético glacial.

### **SOLUCION "A"**

**Hematoxilina Férrica de Weigert.**

1 g. de hematoxilina

100 ml. de alcohol de 96°

### **SOLUCION "B"**

4 ml. de clorúro férrico acuoso 29 %

95 ml. de agua destilada

1.0 ml de ác. clorhídrico concentrado.

**Solución de trabajo:** Se mezclaron en partes iguales la solución A y B

### **Sol. Acuosa de Acido Acético al 1 %.**

1.0 ml de ácido acético glacial

99 ml de agua destilada

### **Solución de fucsina + escafiata de Biebrich**

90 ml de escafiata de Biebrich acuosa al 1 %

10 ml de fucsina ácida acuosa al 1 %

1 ml de ácido acético glacial

### **Solución de ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico**

5 g. de ácido fosfomolibdico

5 g. de ácido fosfotúngstico

500 ml de agua destilada

### **Solución azul de anilina**

2.5 g. de azul de anilina

2 ml. de ácido acético

100 ml de agua destilada

### **Reactivo de Schiff**

Se disolvió 1 g. de fucsina básica en 200 ml. de agua destilada hasta la ebullición, se enfrió a 50 °C y se añadieron 20 ml. de solución de ácido clorhídrico 1 N, se filtró, se deja enfriar a 30 °C y se añadió 1 g. de metabisulfito de sodio, se tapó y se guardó en la oscuridad por 2 días, hasta que tomó color paja, se agregó ½ g. de carbón activado y se filtró.

## **XII.- 6 ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS**

Se escogieron al azar 10 campos de cada uno de los grupos y de cada región del encéfalo estudiadas, se observaron a un aumento de 40 X, en un microscopio Zeiss, todos los datos fueron analizados estadísticamente empleando una prueba no paramétrica la cual es adecuada para este diseño en bloques al azar. La comparación múltiple de medias se realizó usando la prueba de Mann-Whitney. El límite de significancia estadística se estableció a  $p < 0.05$ .

### **XIII. RESULTADOS**

#### **XIII.1 SINTOMAS OBSERVADOS**

**Grupo con talio.-** La diarrea fue el primer síntoma, se manifestó a las 48 horas en un 40% de los animales, a las 72 horas se observó pelo erizado y pérdida de apetito en un 30% de las ratas. Se inició la alopecia en un 50%. Siete días después, los síntomas fueron más intensos y se manifestaron en el 100% de las ratas (tabla I).

**Grupo AP.-** Los síntomas aparecieron 72 horas después de la inyección de talio: diarrea en un 10% de los animales, pérdida de apetito en 10%, el pelo erizado lo presentaron el 20%, y la alopecia un 20%. Siete días después del tratamiento el 10% presentaron diarrea (tabla I).

**Grupo DP.-** Los síntomas se manifestaron a las 48 horas, en el 50% de las ratas, siendo más intensos a las 72 horas; a los siete días se observaron los síntomas en el 100% de las ratas con una mayor intensidad, manifestaron movimientos anormales al caminar y movimientos circulares de cabeza (tabla I).

**Grupo AP+DP.-** Algunos síntomas se manifestaron a las 72 horas, aunque fueron muy leves en el 10% de las ratas, a los siete días no aumentó la intensidad de los síntomas y en algunos no se manifestaron (tabla I).

En la tabla I se concentran los resultados de los síntomas de las ratas que fueron intoxicadas con acetato de talio y de las tratadas 24 horas después con AP, DP y AP+DP, cada uno representa el promedio de 10 ratas por grupo.

**Tabla 1. Efectos de los tratamientos con talio, azul de Prusia y D-penicilamina en las ratas. Resultados después de 72 hrs. del tratamiento**

SINTOMAS				
TRATAMIENTO	DIARREA	ALOPECIA	PELO ERIZADO	FALTA DE APETITO
Talio (control)	4/10 (40 %)	5/10 (50 %)	3/10 (30 %)	3/10 (30 %)
Azul de Prusia (AP)	1/10 (10%) *	2/10 (20 %)	2/10 (20 %)	2/10 (20 %)
D-penicilamina (DP)	10/10 (100 %)	5/10 (50 %)	5/10 (50 %)	3/10 (30 %)
DP+AP	1/10 (10 %) *	1/10 (10 %) *	1/10 (10 %) *	0/10 (0 %) *

\* Significativo respecto al control  $p < 0.01$ ,  $\chi^2$



## **XIII.2 OBSERVACIONES MICROSCOPICAS**

Los resultados de este estudio demostraron las alteraciones neuromorfológicas producidas por acetato de talio en corteza parietal, tálamo, hipocampo y cerebelo; así como los cambios estructurales causados por el azul de Prusia, la D-penicilamina y la combinación de ambos.

### **CORTEZA PARIETAL**

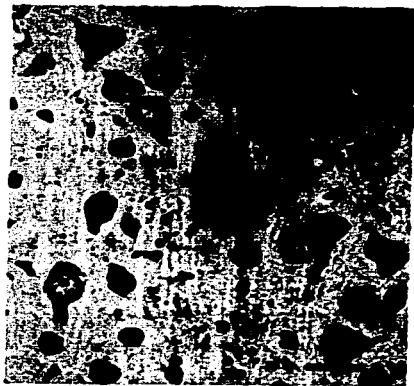
**En el grupo tratado con talio.-** La mayoría de las células piramidales presentaron variación en el parámetro de la cromatina, algunas tenían núcleo condensado e hiper Cromático, con citoplasma altamente eosinofílico, retracción celular, las dendritas de algunas células eran flexuosas y presentaban edema intersticial (Láminas: 1A, 2A, 3A, 4A, tabla II y gráfica 1).

**En el grupo tratado con talio + azul de Prusia.** Algunas células piramidales presentaron retracción celular, vacuolización citoplásmica, núcleo altamente condensado e hiper Cromático, sus dendritas eran flexuosas (Lám. 3 B) y muchas de estas no se alteraron ( Láminas: 1B, 2B, 4B, tabla II y gráfica 1).

**En el grupo tratado con talio + D-penicilamina.** varias células piramidales presentaron variación en el parámetro de la cromatina, con núcleo altamente condensado e hiper Cromático, en otras se observó retracción celular y edema intersticial, en comparación con la fig. 1 donde se observó la apariencia normal de las células piramidales (Láminas: 1C, 2C, 3C, 4C, tabla II y gráfica 1).

**En el grupo tratado con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** La mayoría de las células estaban preservadas en comparación con los grupos de TI+TI+Dp, pocas tenían variación en el parámetro de la cromatina, núcleos condensados e hiper cromáticos, vacuolización citoplásmica, se observó edema (Láminas: 1D, 2D, 3D, 4D, tabla II y gráfica 1).

En la gráfica 1 y la tabla II , el grupo intoxicado con talio y tratado con D-penicilamina, presentó lesiones neuronales más graves y un mayor número de células estaban alteradas con respecto al grupo tratado con la combinación de azul de Prusia y D-penicilamina, fueron estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) .



**Figura 1- Corteza parietal de rata testigo, mostrando la  
aparición normal de las células piramidales.  
Impregnación argéntica simple en frío 125 X  
Barra = 12.5  $\mu$ m**

## **Sacrificadas 24 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 1**

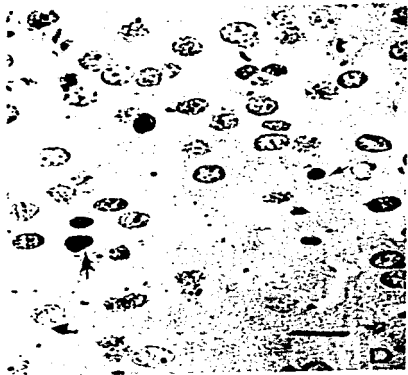
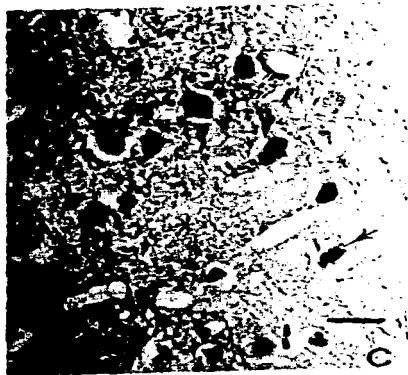
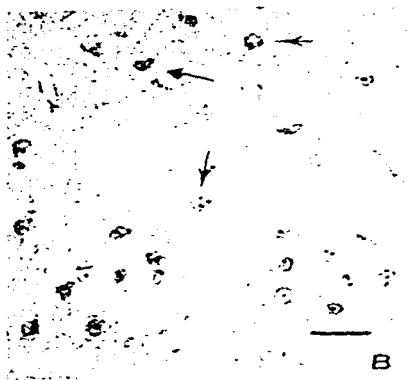
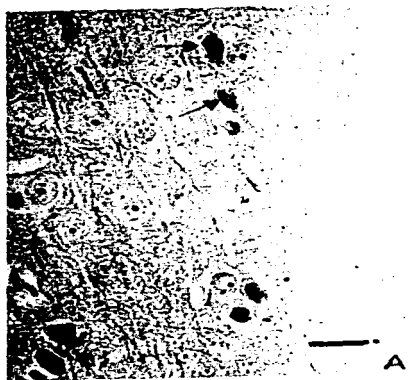
**A). Corteza parietal de rata tratada con talio.** Algunas células piramidales están preservadas, otras presentaron retracción celular con núcleos condensados e hipercromáticos (↑). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15 μm.

**B).- Corteza parietal de rata tratada con talio + azul de Prusia.** Varias células piramidales están encogidas, algunos núcleos se observaron condensados e hipercromáticos (↑). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15 μm.

**C).- Corteza parietal de rata tratada con talio + D-penicilamina.** La mayoría de las células piramidales estaban retraídas, en algunos núcleos estaban condensados, hipercromáticos y en desintegración (↑), se observó edema intersticial (\*). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15 μm.

**D).- Corteza parietal de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** La mayoría de las células piramidales se conservan intactas, dos estaban encogidas, su núcleo condensado e hipercromático (↑). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15 μm.

LAMINA I



## **Sacrificadas 48 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 2**

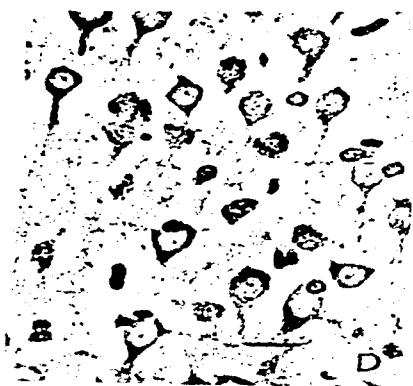
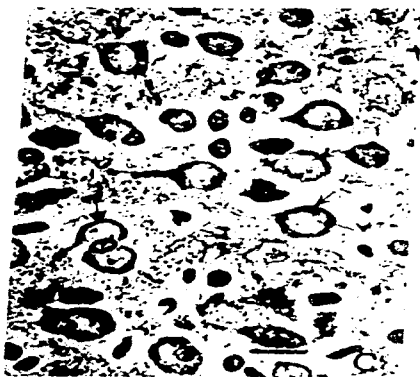
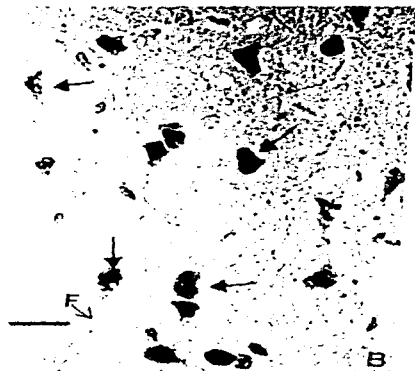
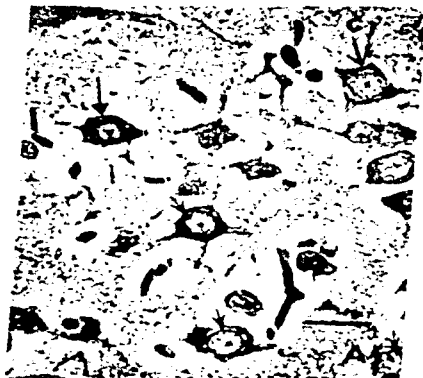
**A).- Corteza parietal de rata tratada con talio.** Varias células piramidales presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), cromatólisis (c). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**B).- Corteza parietal de rata tratada con talio + azul de Prusia.** Las células piramidales estaban retraídas, algunos núcleos se observaron condensados e hiper cromáticos ( $\uparrow$ ) sus dendritas estaban flexuosas (F), en comparación con la figura 1. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**C).- Corteza parietal de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Las células piramidales presentaban vacuolización (V) y variación en el parámetro de la cromatina en dos células, en comparación con la figura 1 ( $\uparrow$ ). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**D.- Corteza parietal de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células piramidales están conservadas. Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

LAMINA 2



## **Sacrificadas 72 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 3**

**A).- Corteza parietal de rata tratada con tallo.** Las células piramidales presentaron retracción celular, con núcleos condensados e hipercomáticos ( $\uparrow$ ), sus dendritas estaban flexuosas (F), había edema intersticial (\*), en comparación con la figura 1. donde se observó la apariencia normal de las células piramidales. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

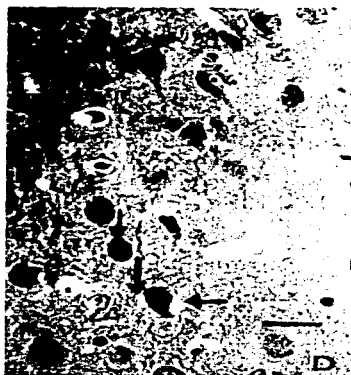
**B).- Corteza parietal de rata tratada con tallo + azul de Prusia.** La mayoría de las células piramidales estaban conservadas, algunas presentaron vacuolas en su citoplasma ( $\uparrow$ ) Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**C).- Corteza parietal de ratas con tallo + D-penicilamina.** Algunas células piramidales tenían núcleos altamente condensados e hipercomáticos, presentaban retracción celular ( $\uparrow$ ), una célula se ha desintegrado (\*). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**D).- Corteza parietal de ratas con tallo + azul de Prusia + D-penicilamina.** La mayoría de las células piramidales estaban preservadas, una célula presentó vacuolización en su citoplasma ( $\uparrow$ ) los núcleos condensados e hipercomáticos ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.



LAMINA 3



## **Sacrificadas 7 días después del tratamiento**

### **LAMINA 4**

**A).- Corteza parietal de rata tratada con talio.** Las células piramidales presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), cromatólisis (c), edema intersticial (\*). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**B.- Corteza parietal de rata tratada con talio + azul de Prusia.** La mayoría de las células estaban conservadas, algunas tenían su núcleo condensado e hipercromático, escasas con retracción celular ( $\uparrow$ ). Impregnación argéntica simple en frío R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**C).- Corteza parietal de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Las células piramidales estaban retraídas, con núcleo condensado e hipercromático ( $\uparrow$ ), en comparación con la figura 1. Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**D).- Corteza parietal de rata tratada con talio + Azul de Prusia + D-penicilamina.** La mayoría de las células piramidales estaban conservadas. Impregnación argéntica simple en frío R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

LAMINA 4

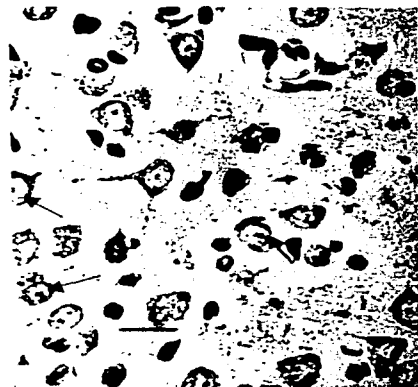
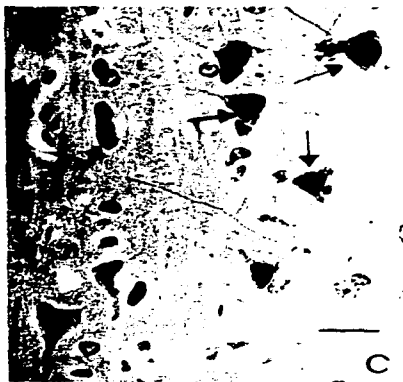
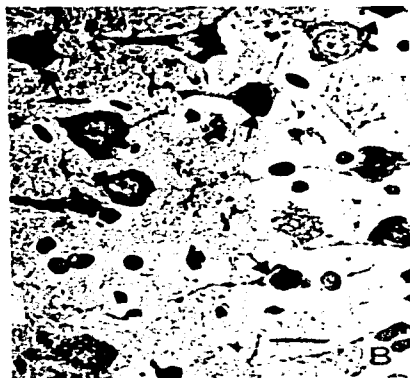
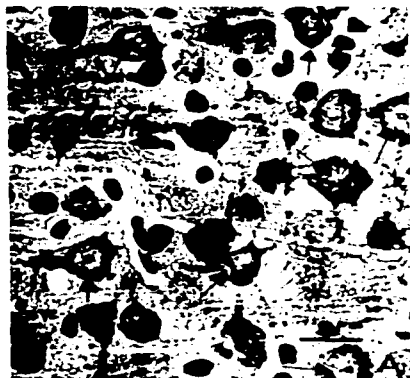
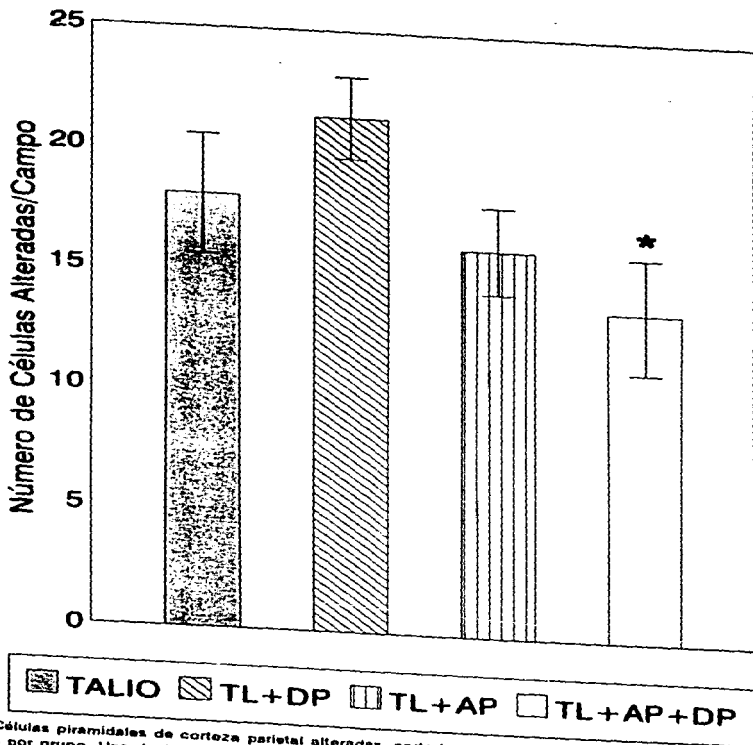


Tabla II.- Efecto de los tratamientos con AP y DP en la citología de las ratas tratadas con tallo.

CORTEZA PARIETAL

Tratamiento \ Tiempo	24 (horas)	48 (horas)	72 (horas)	7 (días)
TL	(40%)retracción celular (0%) eosinofilia (30%)hipercromacia (30%)núcleos condensados (0%)cromatina alterada (0%)cromatólisis (0%)dendritas flexuosas	(15%)retracción celular (15%)eosinofilia (25%)hipercromacia (10%)núcleos condensados (25%)cromatina alterada (10%)cromatólisis (0%)dendritas flexuosas	(15%)retracción celular (15%)eosinofilia (25%)hipercromacia (10%)núcleos condensados (0%) cromatina alterada (0%)cromatólisis (5%)dendritas flexuosas edema intersticial	(0%)retracción celular (25%)eosinofilia (0%)hipercromacia (0%)núcleos condensados (25%)cromatina alterada (10%)cromatólisis (5%)dendritas flexuosas
TL+AP	(30%)retracción celular (0%)eosinofilia (18%)hipercromacia (18%)núcleos condensados (0%)vacuolización (0%)dendritas flexuosas (30%)conservadas	(30%)retracción celular (15%)eosinofilia (15%)hipercromacia (15%)núcleos condensados (0%)vacuolización (5%)dendritas flexuosas (25%)conservadas	(0%)retracción celular (0%)eosinofilia (10%)hipercromacia (10%)núcleos condensados (20%)vacuolización (0%)dendritas flexuosas (50%)conservadas	(0%)retracción celular (0%)eosinofilia (15%)hipercromacia (15%)núcleos condensados (0%)vacuolización (0%)dendritas flexuosas (70%)conservadas
TL+DP	(50%)retracción celular (30%)eosinofilia (0%)hipercromacia (20%)núcleos condensados (0%)cromatina alterada (0%)cromatólisis (0%)vacuolización	(40%)retracción celular (25%)eosinofilia (10%)hipercromacia (10%)núcleos condensados (10%)cromatina alterada (0%)cromatólisis (5%)vacuolización	(40%)retracción celular (15%)eosinofilia (15%)hipercromacia (10%)núcleos condensados (10%)cromatina alterada (10%)cromatólisis (0%)vacuolización	(50%)retracción celular (10%)eosinofilia (20%)hipercromacia (20%)núcleos condensados (0%)cromatina alterada (0%)cromatólisis (0%)vacuolización
TL+AP+DP	(10%)retracción celular (0%)eosinofilia (10%)hipercromacia (0%)núcleos condensados (10%)cromatina alterada (0%)vacuolización (70%)conservadas	(0%) retracción celular (10%)eosinofilia (0%)hipercromacia (0%)núcleos condensados (10%)cromatina alterada (0%)vacuolización (70%)conservada	(0%)retracción celular (0%)eosinofilia (10%)hipercromacia (10%)núcleos condensados (0%)cromatina alterada (10%)vacuolización (70%)conservadas	(0%)retracción celular (0%)eosinofilia (10%)hipercromacia (10%)núcleos condensados (10%)cromatina alterada (0%)vacuolización (70%)conservadas



GRAF.1 Células piramidales de corteza parietal alteradas, cada barra representa el promedio  $\pm$  de 10 laminillas por grupo. Una dosis de TL 32 mg/kg, dosis diaria DP 50 mg/kg, AP 100 mg/kg durante 5 días  
 \* significativo con respecto al grupo de talio  $p < 0.05$  (prueba de Mann-Whitney).

## **HIPOCAMPO**

**En el grupo tratado con talio.** Tanto las células granulosas como la piramidales y estrelladas presentaron variación en el parámetro de la cromatina, con núcleos altamente condensados, hiper Cromáticos, algunas presentaron retracción celular y citoplasma eosinofílico (fig. 4), edema intersticial, algunas están preservadas, en comparación con las figuras 2 y 3 donde se observó la apariencia normal de las células granulosas y piramidales (Láminas: 5A, 6A, 7A, 8A, tabla III y gráfica 2).

**En el grupo tratado con talio + azul de Prusia.** varias células granulosas piramidales y estrelladas presentaron variación en el parámetro de la cromatina, núcleo condensado, hiper Cromático, otras presentaron citoplasma eosinofílico (fig 4), hay cromatólisis y edema intersticial, en comparación con las figuras 2 y 3 (Láminas: 5B, 6B, 7B, 8B, tabla III y gráfica 2).

**En el grupo tratado con talio + D-penicilamina.** Varias células piramidales, granulosas y estrelladas de la capa CA4, presentaron variación en el parámetro de la cromatina, con núcleo altamente condensado e hiper Cromático, citoplasma eosinofílico (fig. 4), cromatólisis y retracción celular, en comparación con las figuras 2 y 3 donde se apreció la apariencia normal tanto de las células granulosas como de la piramidales (Láminas: 5C, 6C, 7C, 8C, tabla III y gráfica 2).

**En el grupo tratado con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células tanto granulosas como piramidales y estrelladas están conservadas, pocas presentaron desintegración de la cromatina, con núcleo condensado, citoplasma eosinofílico (fig. 4), cromatólisis. (Láminas: 5D,6D,7D, 8D, tabla III y gráfica 2).

En la gráfica 2 y la tabla III, pocas células del hipocampo presentaron lesiones, incluyendo el grupo que fue tratado con D-penicilamina aislado, aunque hay una diferencia estadísticamente significativa de  $p < 0.05$ . Es la región del cerebro menos lesionada en nuestro estudio.

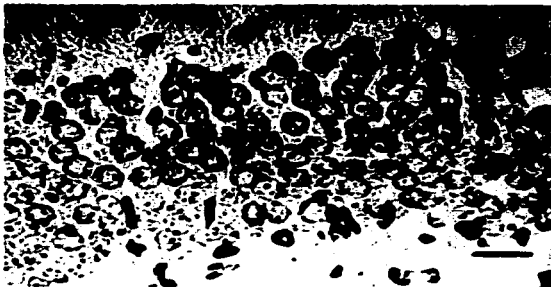


Figura 2 - **Hipocampo** de rata testigo, mostrando la apariencia normal de las células granulosas. Impregnación argéntica simple en frío 100 X. Barra = 15  $\mu$ m



Figura 3.- **La Capa CA2 del Hipocampo**. Observando su apariencia normal de las células piramidales. Impregnación simple en frío 125 X. Barra= 12.5  $\mu$ m

## **Sacrificadas 24 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 5**

**A).- Hipocampo de rata tratada con talio.** Algunas de las células granulosas presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), otras con núcleos condensados e hiper Cromáticos ( $\uparrow$ ), hay edema intersticial (\*). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

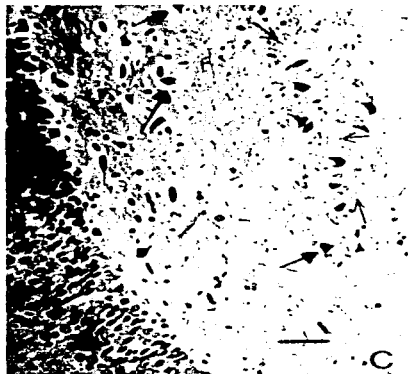
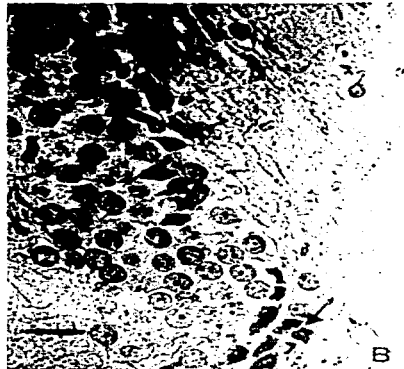
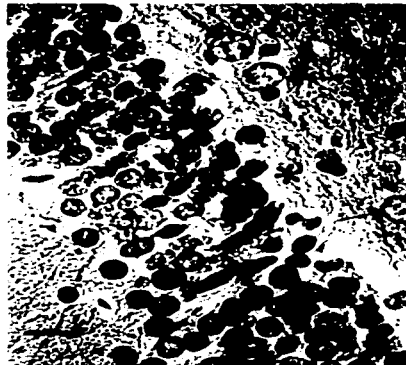
**B).- Hipocampo de rata tratada con talio + azul de Prusia.** La mayoría de las células granulosas están preservadas, pocas presentaron hiper Cromacia ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100X. Barra = 15  $\mu$ m.

**C).- Hipocampo de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Las células estrelladas de la CA<sub>4</sub> se observaron encogidas, con retracción celular, ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 80 X. Barra = 30  $\mu$ m.

**D.- Hipocampo de la rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células granulosas estaban conservadas. Doble impregnación argéntica en caliente de R-H, 80 X. Barra = 30  $\mu$ m.



LAMINA 5



## **Sacrificadas 48 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 6**

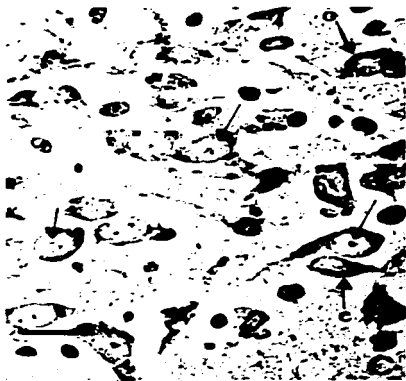
**A).- Hipocampo de rata tratada con talio.** Algunas células piramidales presentaron (c). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**B).- Hipocampo de rata tratada con talio + azul de Prusia.** Algunas células piramidales presentaron núcleos condensados e hiper cromáticos ( $\uparrow$ ), variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**C).- Hipocampo de rata tratada con talio + D-penicilamina.** La mayoría de las células piramidales presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), cromatólisis (c). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5 $\mu$ m.

**D).- Hipocampo de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células piramidales estaban conservadas. Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

LAMINA 6



## **Sacrificadas 72 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 7**

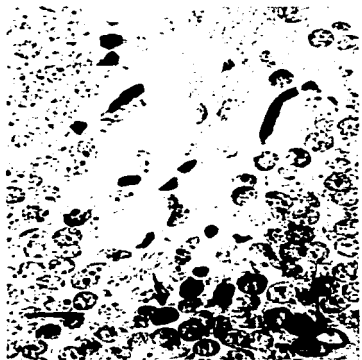
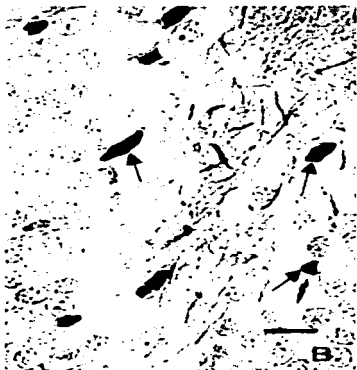
**A). - Hipocampo de rata tratada con talio.** Algunas de las células piramidales presentaron retracción celular, núcleos condensados e hiper cromáticos ( $\uparrow$ ), hay edema (\*). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**B).- Hipocampo de rata tratada con talio + azul de Prusia.** La mayoría de las células granulosas estaban conservadas, algunas presentaron retracción celular, núcleo hiper cromático ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**C).- Hipocampo de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Algunas de las células granulosas y estrelladas presentaron núcleo condensado e hiper cromático ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 80X. Barra = 30  $\mu$ m.

**D).- Hipocampo de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células granulosas estaban conservadas, pocas células tenían el núcleo condensado ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

Lamina 7



## **Sacrificadas 7 días después del tratamiento**

### **LAMINA 8**

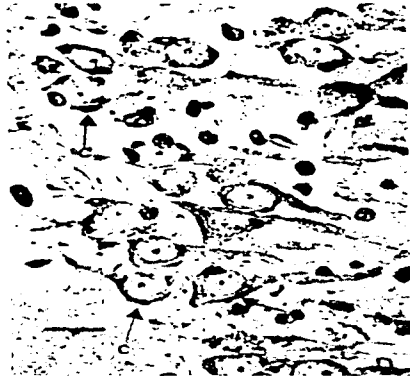
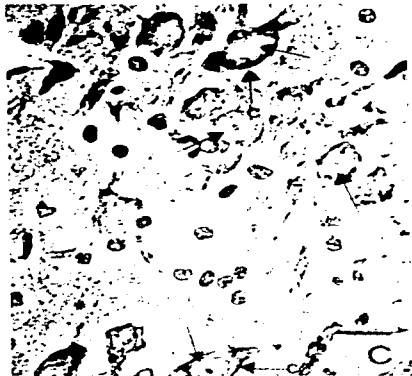
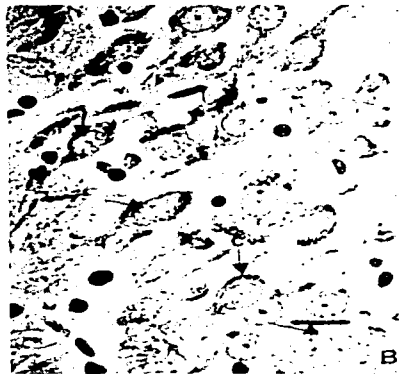
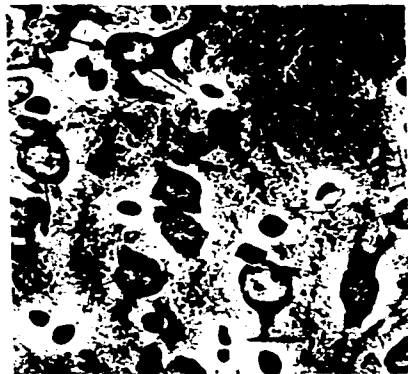
**A).- Hipocampo de rata tratada con tallo.** Las células piramidales presentaron alteración en la cromatina ( $\uparrow$ ), cromatólisis (c), algunas estaban conservadas (\*). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra=12.5  $\mu$ m.

**B).- Hipocampo de rata tratada con tallo + azul de Prusia.** La mayoría de las células estaban conservadas, algunas presentaron variación en la cromatina nuclear ( $\uparrow$ ) cromatólisis (c). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**C.- Hipocampo de rata tratada con tallo + D-penicilamina.** La mayoría de las células presentaron retracción celular, variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), cromatólisis (c), edema intersticial (\*). impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**D.- Hipocampo de rata tratada con tallo + azul de Prusia + D-penicilamina.** La mayoría de las células piramidales estaban preservadas, algunas presentaron cromatólisis (c). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

LAMINA 8



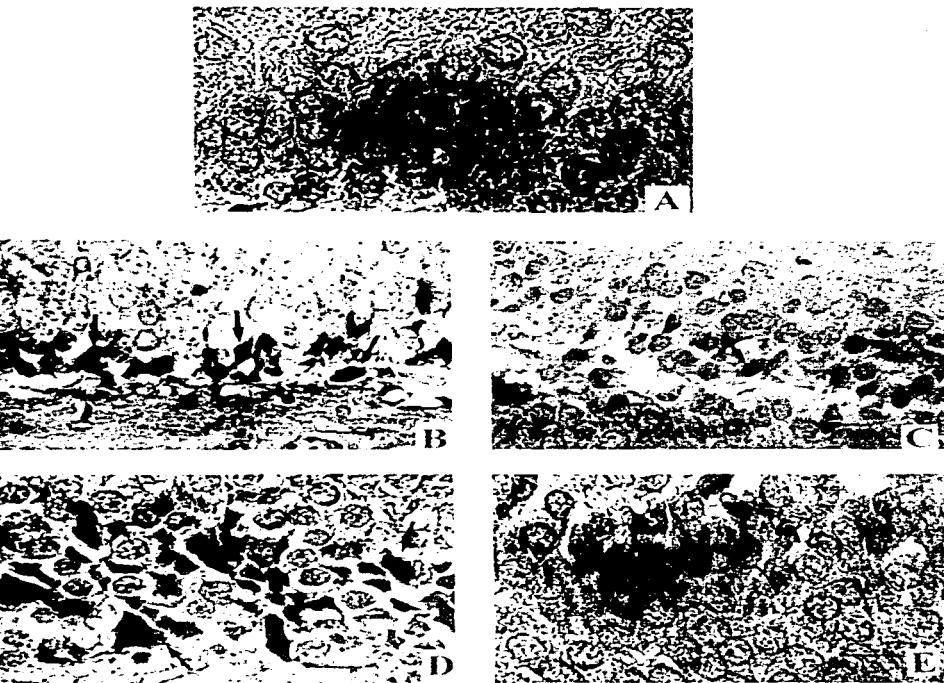


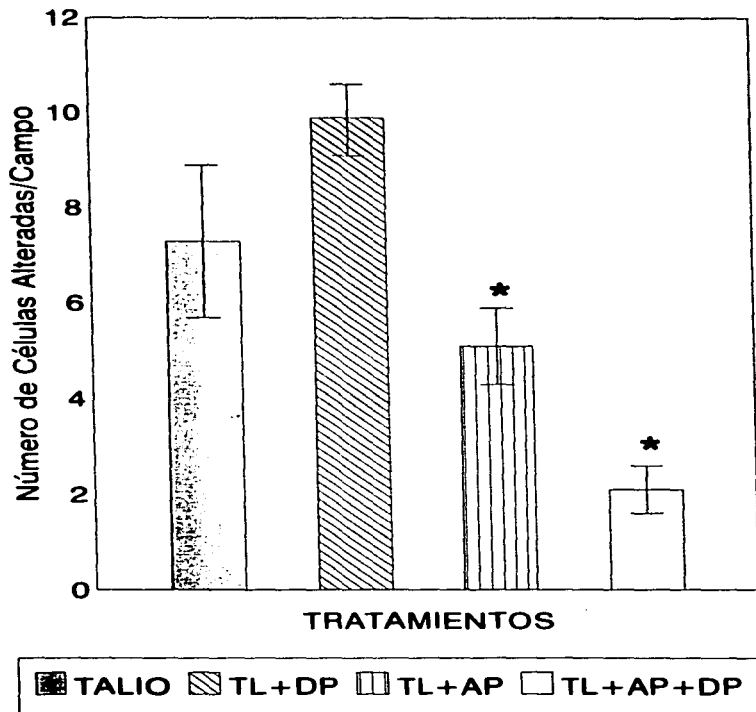
Figura 4 - Corte de hipocampo A) rata testigo observado la apariencia normal de las células granulosas 125 X barra=12.5 μm B) grupo Ti+AP C) grupo Ti+DP se observaron algunas células con citoplasma eosinofílico (↑) 100 X barra=15 μm y E) grupo Ti+AP+DP presentaron una apariencia normal 125 X barra=12.5 μm Metodo de H-E



Tabla III.- Efecto de los tratamientos con AP y DP en la citología de las ratas tratadas con talio

HIPOCAMPO

Tiempo Tratamientos	HIPOCAMPO			
	24 (horas)	48 (horas)	72 (horas)	7 (días)
<b>TL</b>	(0%) eosinofilia (50%) cromatina alterada (0%) retracción celular (25%) hiperromacia (25) núcleos condensados (0%) cromatólisis edema intersticial	(50%) eosinofilia (50%) cromatina alterada (0%) retracción celular (0%) hiperromacia (0%) núcleos condensados (0%) cromatólisis no hay	(35%) eosinofilia (0%) cromatina alterada (25%) retracción celular (20%) hiperromacia (20%) núcleos condensados (0%) cromatólisis edema intersticial	(45%) eosinofilia (35%) cromatina alterada (0%) retracción celular (0%) hiperromacia (0%) núcleos condensados (10%) cromatólisis no hay
<b>TL+AP</b>	(0%) eosinofilia (0%) retracción celular (25%) hiperromacia (0%) núcleos condensados (0%) cromatina alterada (0%) cromatólisis (75%) conservadas	(40%) eosinofilia (0%) retracción celular (20%) hiperromacia (15%) núcleos condensados (20%) cromatina alterada (0%) cromatólisis	(0%) eosinofilia (25%) retracción celular (10%) hiperromacia (10%) núcleos condensados (10%) cromatina alterada (0%) cromatólisis (40%) conservadas	(0%) eosinofilia (0%) retracción celular (0%) hiperromacia (0%) núcleos condensados (25%) cromatina alterada (20%) cromatólisis (65%) conservadas
<b>TL+DP</b>	(40%) eosinofilia (20%) retracción celular (0%) hiperromacia (0%) núcleos condensados (20%) cromatina alterada (0) cromatólisis no hay edema (20%) conservadas	(40%) eosinofilia (0%) retracción celular (0%) hiperromacia (0%) núcleos condensados (20%) cromatina alterada (15%) cromatólisis no hay edema (25%) conservadas	(35%) eosinofilia (0%) retracción celular (15%) hiperromacia (10%) núcleos condensados (10%) cromatina alterada (0%) cromatólisis no hay edema (25) conservadas	(20%) eosinofilia (35%) retracción celular (0%) hiperromacia (0%) núcleos condensados (15%) cromatina alterada (10%) cromatólisis edema intersticial (20%) conservadas
<b>TL+AP+DP</b>	(0%) eosinofilia (0%) núcleos condensados (0%) cromatina alterada (0%) cromatólisis (95%) conservadas	(10%) eosinofilia (0%) núcleos condensados (10%) cromatina alterada (0%) cromatólisis (80%) conservadas	(0%) eosinofilia (10%) núcleos condensados (10%) cromatina alterada (0%) cromatólisis (80 %) conservadas	(10%) eosinofilia (0%) núcleos condensados (0%) cromatina alterada (5%) cromatólisis (85%) conservadas



GRAF.2 Células piramidales de hipocampo alteradas, cada barra representa el promedio  $\pm$  de 10 laminillas por grupo. Una dosis TL 32 mg/kg, dosis diaria DP 50 mg/kg, AP 100 mg/kg durante 5 días. \*significativo con respecto al grupo de talio  $p < 0.05$  (prueba Mann-Whitney).

## TALAMO

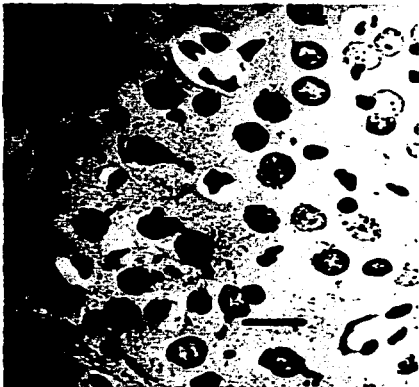
**En el grupo tratado con talio.-** Varias células están conservadas, algunas presentaron desintegración de la cromatina, núcleo condensado e hiper cromático, vacuolización citoplasmica, y edema intersticial ( Figuras 9A, 10A, 11A, 12A, tabla IV y gráfica 3).

**En el grupo tratado con talio + azul de Prusia.** La mayoría de las células estaban preservadas, algunas células tenían variación en el parámetro de la cromatina nuclear en diferentes grados, pocas presentaron retracción celular, vacuolización citoplasmica, algunas dendritas estaban flexuosas, en comparación con la figura 5 donde se observó la apariencia normal de las células (Figuras: 9B, 10B, 11B, 12B, tabla IV y gráfica 3).

**En el grupo tratado con talio + D-penicilamina.** varias células presentaron variación en el parámetro de la cromatina en diferentes grados de lesión, algunas células estaban retraídas, otras estaban hinchadas con citoplasma eosinofílico, y dendritas flexuosas, hay edema intersticial en comparación con las células de la figura 5 (Figuras 9C, 10C, 11C, 12C, tabla IV y gráfica 3).

**En el grupo tratado con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** La mayoría de las células estaban conservadas, pocas presentaron variación en el parámetro de la cromatina, escasos núcleos condensados e hiper cromáticos, son mínimas las células que presentaron retracción celular y vacuolización citoplásmica (Figuras: 9D, 10D, 11D, 12D, tabla # 4 y gráfica 3).

En la gráfica 3 y la tabla IV se puede que la mayoría de las células presentaron lesiones nucleares, siendo más intensas en el grupo que fue tratado con D-penicilamina con una diferencia significativa de  $p < 0.05$ .



**Figura 5.- Tálamo de rata testigo mostrando la apariencia normal de las células. Impregnación argéntica simple en frío, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m**

## **Sacrificadas 24 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 9**

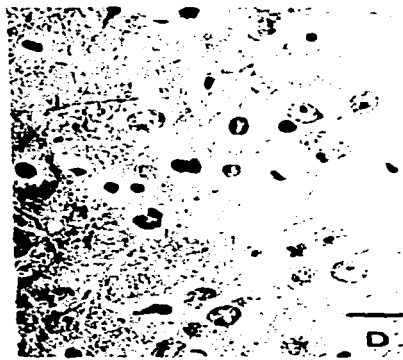
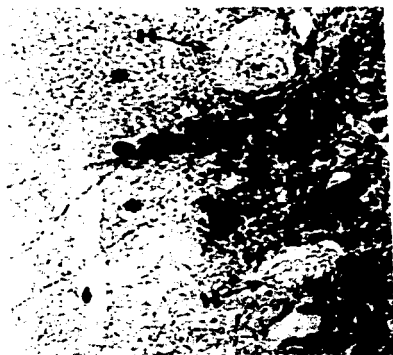
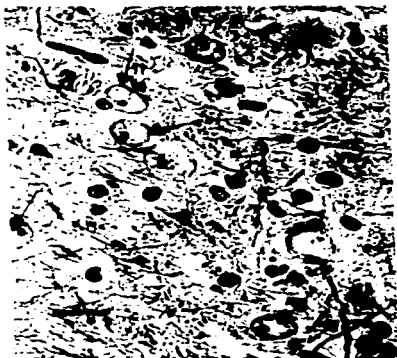
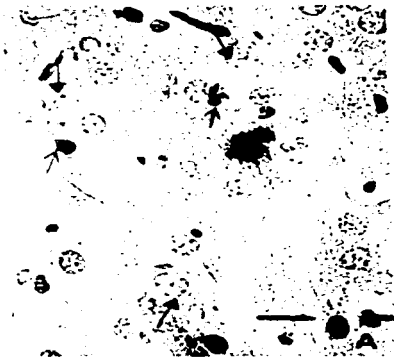
**A).- Tálamo de rata tratada con talio.** La mayoría de las neuronas presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), otras estaban retraídas y con núcleo condensado e hiperromático ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**B).- Tálamo de rata tratada con talio + azul de Prusia.** Las neuronas tenían su cromatina en diferentes grados de alteración ( $\uparrow$ ), pocas presentaron retracción celular e hiperromacia, las fibras están flexuosas y engrosadas (F). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**C).- Tálamo de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Las células estaban hinchadas (H), dos estaban retraídas, con núcleo altamente condensado e hiperromático ( $\uparrow$ ), dendritas flexuosas (F), hay edema (\*). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**D).- Tálamo de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células estaban conservadas. Doble impregnación argéntica en caliente de R-H, 100 X. Barra 15  $\mu$ m.

LAMINA 9



## **Sacrificadas 48 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 10**

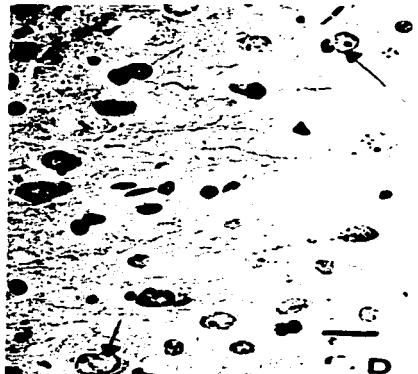
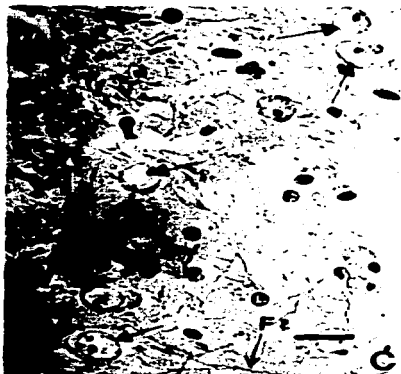
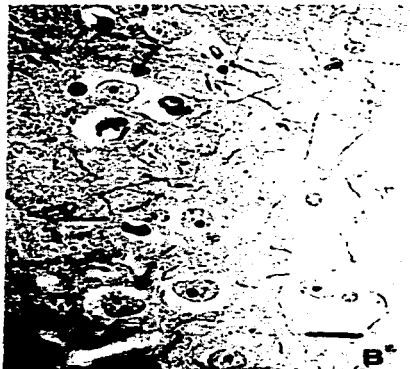
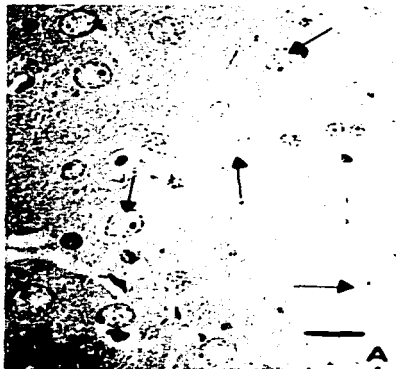
**A).- Tálamo de rata tratada con talio.** Varias neuronas presentaban variación en el parámetro de la cromatina nuclear ( $\uparrow$ ), algunas estaban conservadas. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H , 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**B).- Tálamo de rata tratada con talio + azul de Prusia.** Las neuronas estaban conservadas, dos con vacuolización citoplásmica ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H , 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**C).- Tálamo de rata tratada con talio + D-penicilamina.** La mayoría de las células presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), algunas fibras estaban flexuosas (F). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**D).- Tálamo de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células estaban preservadas, dos presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

LAMINA 10





## **Sacrificada 72 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 11**

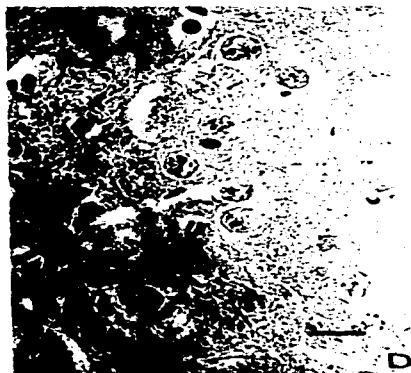
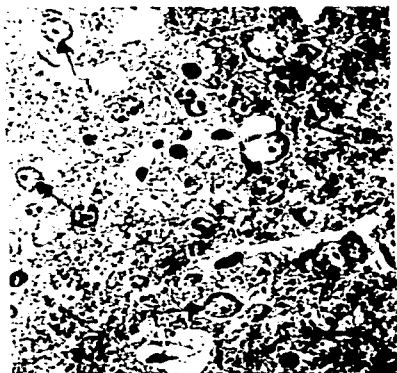
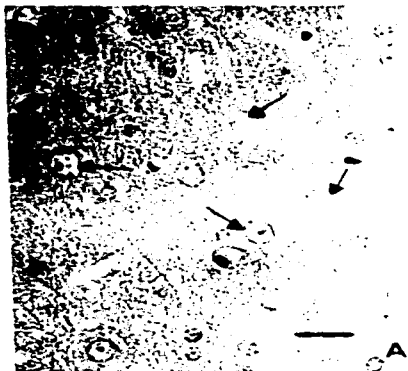
**A).- Tálamo de rata tratada con talio.** La mayoría de las células presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu\text{m}$ .

**B).- Tálamo de rata tratada con talio + azul de Prusia.** Algunas células presentaron vacuolización citoplásmica ( $\uparrow$ ), fibras engrosadas (e). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu\text{m}$ .

**C).- Tálamo de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Las células manifestaron variación en el parámetro de a cromatina ( $\uparrow$ ) y con edema intersticial (\*). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra=12.5 $\mu\text{m}$ .

**D).- Tálamo de rata tratada con talio + azul de prusia + D-penicilamina.** Las células estaban conservadas. Doble impregnación argéntica en caliente de R-H,100 X. Barra = 15  $\mu\text{m}$ .

LAMINA II



## **Sacrificadas 7 días después del tratamiento**

### **LAMINA 12**

**A).- Tálamo de rata tratada con talio.** Las células presentaron algunos núcleos condensados ( $\uparrow$ ), variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), hay edema intersticial (\*). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**B).- Tálamo de rata tratada con talio + azul de Prusia.** Las células estaban conservadas. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 100 X. Barra = 15  $\mu$ m.

**C).- Tálamo de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Las células presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), retracción celular ( $\uparrow$ ), hay edema(\*). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra=12.5 $\mu$ m.

**D).- Tálamo de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células estaban preservadas. Doble impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

LAMINA 12

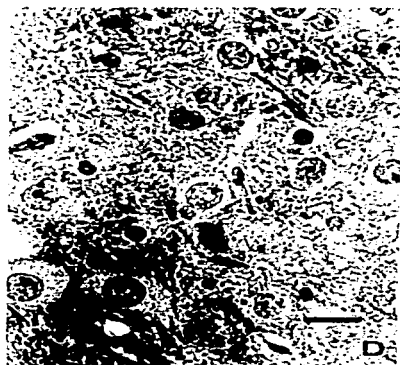
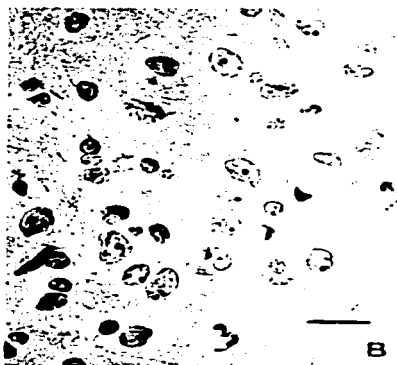
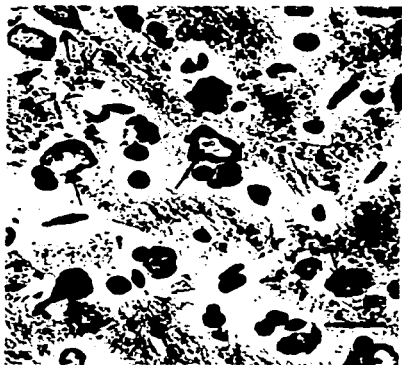
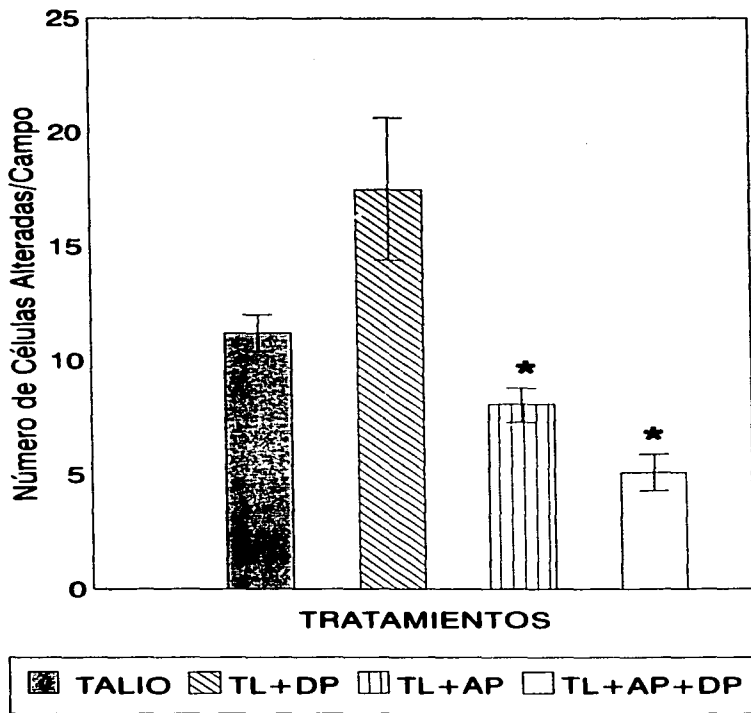


Tabla IV.- Efecto de los tratamientos con AP y DP en la citología de las ratas tratadas con talio

TALAMO

Tiempo Tratamientos	24 (horas)	48 (horas)	72 (horas)	7 (días)
TL	(0%)cromatina alterada (10%)retracción celular (10%)hipercromacia (10%)núcleos condensados (0%)eosinofilia	(0%)cromatina alterada (0%)retracción celular (0%)hipercromacia (0%)núcleos condensados (0%)eosinofilia (20%)conservadas	(100%)cromatina alterada (0%)retracción celular (0%)hipercromacia (0%)núcleos condensados (0%)eosinofilia	(0%)cromatina alterada (0%)retracción celular (0%)hipercromacia (10%)núcleos condensados (20%)eosinofilia
TL+AP	(0%)cromatina alterada (10%)retracción celular (10%)hipercromacia (0%)vacuolización (10%)fibras filamentosas y engrosadas (20%)conservadas	(0%)cromatina alterada (0%)retracción celular (0%)hipercromacia (20%)vacuolización (0%)fibras filamentosas y engrosadas (00%)conservadas	(0%)cromatina alterada (0%)retracción celular (0%)hipercromacia (20%)vacuolización (10%)fibras filamentosas y engrosadas 70% conservadas	(20%)cromatina alterada (0%)retracción celular (0%)hipercromacia (0%)vacuolización (0%)fibras filamentosas y engrosadas (00%)conservadas
TL+DP	(0%)cromatina alterada (0%)retracción celular (0%)eosinofilia (20%)hipercromacia (20%)edema celular (20%)núcleos condensados (10%)fibras filamentosas no hay	(0%)cromatina alterada (0%)retracción celular (0%)eosinofilia (0%)hipercromacia (0%)edema celular (0%)núcleos condensados (10%)fibras filamentosas no hay	(0%)cromatina alterada (0%)retracción celular (0%)eosinofilia (0%)hipercromacia (0%)edema celular (0%)núcleos condensados (0%)fibras filamentosas edemata intersticial	(0%)cromatina alterada (10%)retracción celular (10%)eosinofilia (0%)hipercromacia (0%)edema celular (0%)núcleos condensados (0%)fibras filamentosas edema intersticial
TL+AP+DP	(10%)cromatina alterada (00%)conservadas	(10%)cromatina alterada (00%)conservadas	(10%)cromatina alterada (00%)conservadas	(0%)cromatina alterada (00%)conservadas



GRAF.3 Células de tálamo alteradas, cada barra representa el promedio  $\pm$  de 10 laminillas por grupo. Una dosis de TL 32 mg/kg, dosis diaria DP 50 mg/kg, AP 100 mg/kg durante 5 días \* significativo con respecto al grupo de talio  $p <$  (prueba Mann-Whitney).

## **CEREBELO**

**En el grupo tratado con talio.** La mayoría de las células moleculares estaban preservadas, sólo 7 días después de la intoxicación se encontraron pocas células en la capa molecular (Fig. 16 A), otras presentaron núcleos condensados e hiperromáticos. Las células de Purkinje presentaron las lesiones anteriores y además retracción celular, citoplasma eosinofílico y con vacuolización. Las células granulosas estaban conservadas, pero 7 días después de la intoxicación presentaron cromatólisis (fig. 16 A), en comparación con las figuras 6 y 7 donde se muestra la apariencia normal de las células de las diferentes capas del cerebelo, (Láminas 13 A, 14A, 15A, tabla V y gráfica 4).

**En el grupo tratado con talio + azul de Prusia.** Pocas células de la capa molecular presentaron variación en el parámetro de la cromatina, algunas con núcleo condensado e hiperromático, varias estaban conservadas; sin embargo 7 días después de la intoxicación hubo edema intersticial (fig. 16 B). Las células de Purkinje presentaron las lesiones ya mencionadas con citoplasma eosinofílico y vacuolización, hay cromatólisis, en cuanto a las células granulosas tenían núcleo condensado e hiperromático (Láminas 13B, 14B, 15B, tabla V y gráfica 4

**En el grupo tratado con talio + D-penicilamina.** Las células moleculares presentaron variación en el parámetro de la cromatina, algunas tenían su núcleo hiperromático con retracción nuclear y edema intersticial. Las células de Purkinje presentaron las lesiones anteriores además de citoplasma eosinofílico, con algunas dendritas engrosadas. Las células granulosas tienen desintegración en su cromatina, núcleos condensados e hiperromáticos en comparación con las figuras

6 y 7, donde se muestra la apariencia normal de las células de las diferentes capas del cerebelo (Láminas 13C, 14C, 15C, 16C, tabla V y gráfica 1).

**El grupo tratado con tallo + azul de Prusia + D-penicilamina.** fueron escasas las células con núcleo condensado e hiperromático, pocas células de Purkinje presentaron las lesiones anteriores con retracción celular y citoplasma eosinofílico. Las células granulares, estaban conservadas (Láminas 13D, 14D, 15D, 16D, tabla V y gráfica 4).

En la gráfica 4 y tabla V podemos apreciar que la mayoría de las células de Purkinje estaban alteradas en el grupo que fue tratado con D-penicilamina, con una diferencia significativa de  $p < 0.05$  con respecto a los grupos tratados con la combinación de azul de Prusia y D-penicilamina y azul de Prusia sólo.



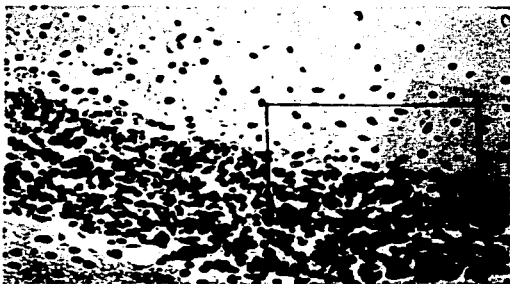


Figura 6 - Cerebelo de rata testigo, mostrando la apariencia normal de las células de las diferentes capas. Impregnación argéntica simple en frío 80 X. Barra = 30  $\mu$ m

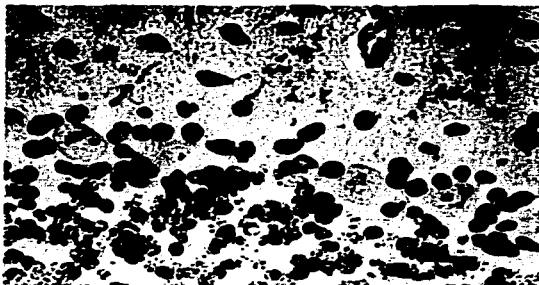


Figura 7.- A mayor aumento se observan las células de Purkinje. Impregnación argéntica simple en frío 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m

## **Sacrificadas 24 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 13**

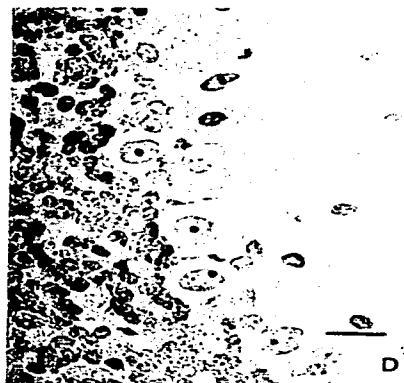
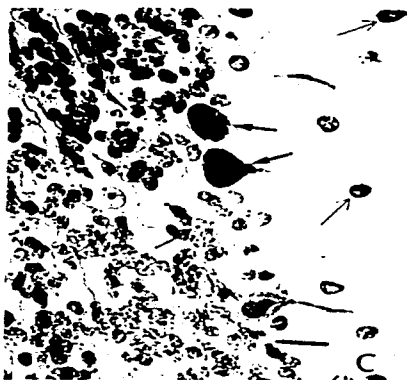
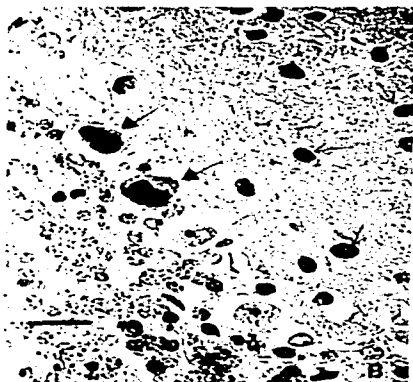
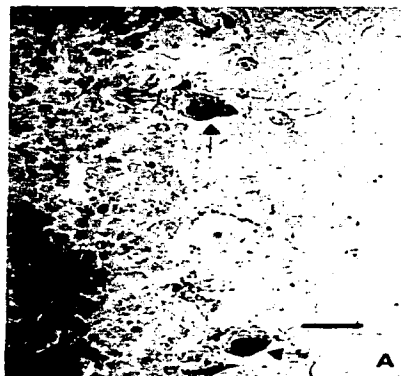
**A).- cerebello de rata tratada con talio.** Las células de la capa molecular estaban conservadas, dos células de Purkinje presentaron núcleo condensado e hiper Cromático, retracción celular ( $\uparrow$ ). Las células granulosas estaban preservadas. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**B).- Cerebello de rata tratada con talio + azul de Prusia.** Las células de la capa molecular estaban con núcleo condensado e hiper Cromático ( $\uparrow$ ), células de Purkinje presentaron las lesiones anteriores, con contracción celular ( $\uparrow$ ). Las células granulosas estaban conservadas. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**C).- Cerebello de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Las células moleculares presentaron retracción celular, su núcleo condensado e hiper Cromático ( $\uparrow$ ). Las células de Purkinje tenían las mismas lesiones ( $\uparrow$ ). Las células granulosas presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**D).- Cerebello de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células de las diferentes capas estaban conservadas. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

LAMINA 13



## **Sacrificadas 48 horas después del tratamiento**

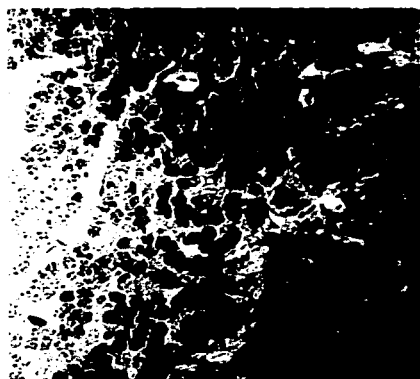
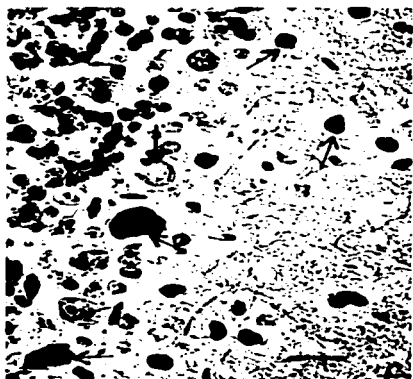
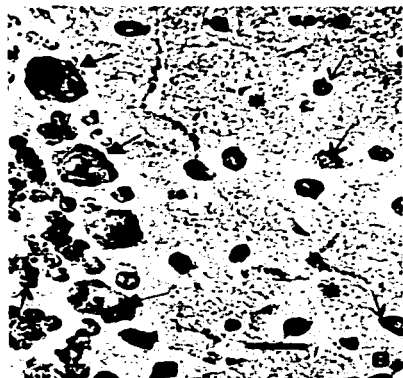
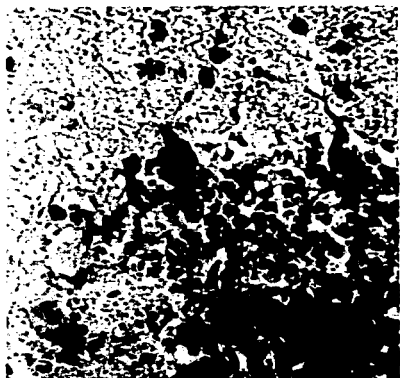
### **LAMINA 14**

**A).- Cerebelo de rata tratada con tallo.-** Las células de la capa molecular estaban con núcleo hiper cromático ( $\uparrow$ ), hubo edema en esta capa (\*). Las células de Purkinje empezaron a retraerse ( $\uparrow$ ). Las células de la capa granulosa estaba preservada. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra=12.5  $\mu$ m.

**B).- Cerebelo de rata tratada con tallo + azul de Prusia.** Las células moleculares presentaron variación en el parámetro de la cromatina e hiper cromasia ( $\uparrow$ ), hubo edema intersticial (\*); las células de Purkinje y granulosas manifestaron las lesiones anteriores ( $\uparrow$ ). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**C).- Cerebelo de rata tratada con tallo + D-penicilamina.** Las células moleculares estaban con su núcleo altamente denso e hiper cromático ( $\uparrow$ ), hubo edema (\*), las células de Purkinje presentaron las lesiones anteriores, dos con variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), las células granulosas presentaron las mismas lesiones. Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra=12.5  $\mu$ m.

**D).- Cerebelo de rata tratada con tallo + Azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células moleculares tienen su núcleo condensado, las demás están conservadas. Impregnación simple en frío de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.



## **Sacrificadas 72 horas después del tratamiento**

### **LAMINA 15**

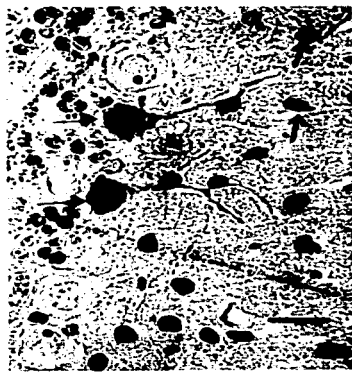
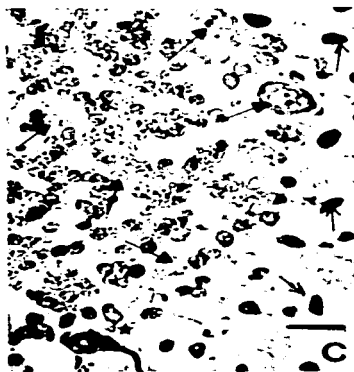
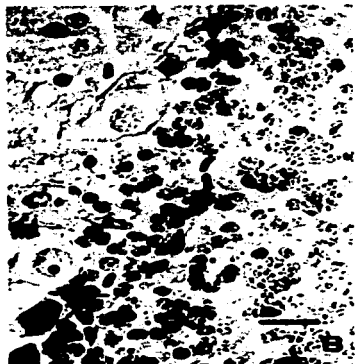
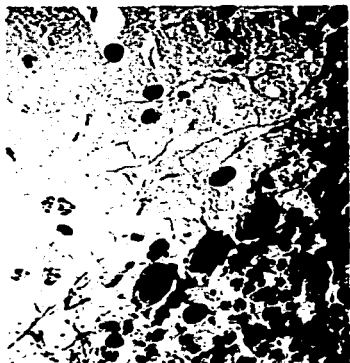
**A).- Cerebelo de rata tratada con talio.** Algunas células moleculares tenían el núcleo hiper cromático ( $\uparrow$ ), las células de Purkinje presentaron retracción celular, con núcleos densos ( $\uparrow$ ). Las células granulosas estaban conservadas. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**B).- Cerebelo de rata tratada con talio + azul de Prusia.** La mayoría de las células de las tres capas estaban conservadas, dos células de Purkinje presentaron retracción celular y núcleo hiper cromático ( $\uparrow$ ). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5  $\mu$ m.

**C).- Cerebelo de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Las células moleculares estaban retraídas con núcleo condensado e hiper cromático ( $\uparrow$ ). Las células de Purkinje y granulares presentaron variación en el parámetro de la cromatina ( $\uparrow$ ), hubo una célula con núcleo condensado (\*). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X Barra = 12.5  $\mu$ m.

**D).- Cerebelo de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Algunas células moleculares tenían núcleo condensado e hiper cromático ( $\uparrow$ ), la mayoría de las células Purkinje estaban conservadas, sólo dos células presentaron las lesiones anteriores con retracción celular ( $\uparrow$ ), las células granulosas estaban conservadas. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra=12.5  $\mu$ m.

LAMINA 15



## **Sacrificadas 7 días después del tratamiento**

### **LAMINA 16**

**A).- Cerebelo de rata tratada con talio.** La capa molecular, tenía pocas células, hubo edema (\*), dos células de Purkinje estaban retraídas, presentaron núcleo condensado e hiperromático (↑). En la capa granulosa las neuronas se observaron conservadas. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5 μm.

**B).- Cerebelo de rata tratada con talio + azul de Prusia.** Las células moleculares presentaron variación en el parámetro de la cromatina, algunos núcleos estaban condensados e hiperromáticos (↑), hubo edema intersticial (\*), dos células de Purkinje presentaron retracción celular, núcleo condensado e hiperromático (↑). Las células granulosas tenían núcleo denso (↑). Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5 μm.

**C).- Cerebelo de rata tratada con talio + D-penicilamina.** Los núcleos de las células moleculares estaban hiperromáticos y variación en el parámetro de la cromatina (↑), hubo edema (\*). Las células de Purkinje presentaron las lesiones anteriores, con retracción celular (↑). También las células granulosas tenían su cromatina alterada (↑). Impregnación argéntica simple en frío de R-H, 125 X. Barra=12.5 μm.

**D).- Cerebelo de rata tratada con talio + azul de Prusia + D-penicilamina.** Las células tanto moleculares como de Purkinje y granulosas estaban conservadas. Doble impregnación argéntica simple en caliente de R-H, 125 X. Barra = 12.5 μm.



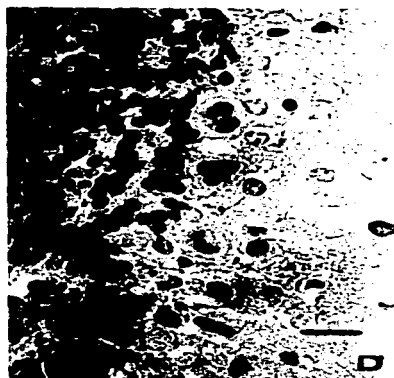
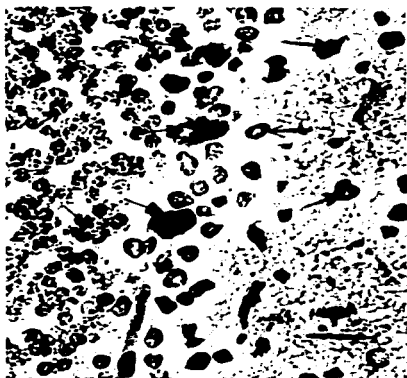
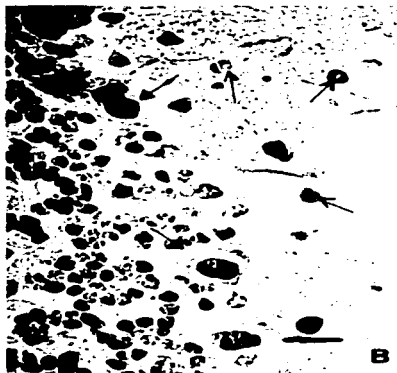
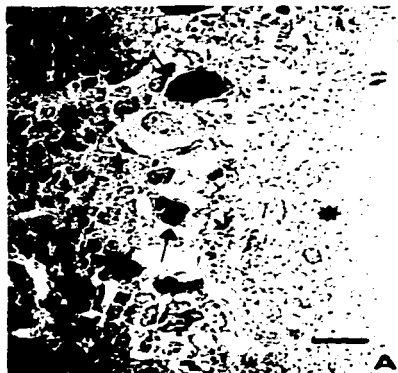
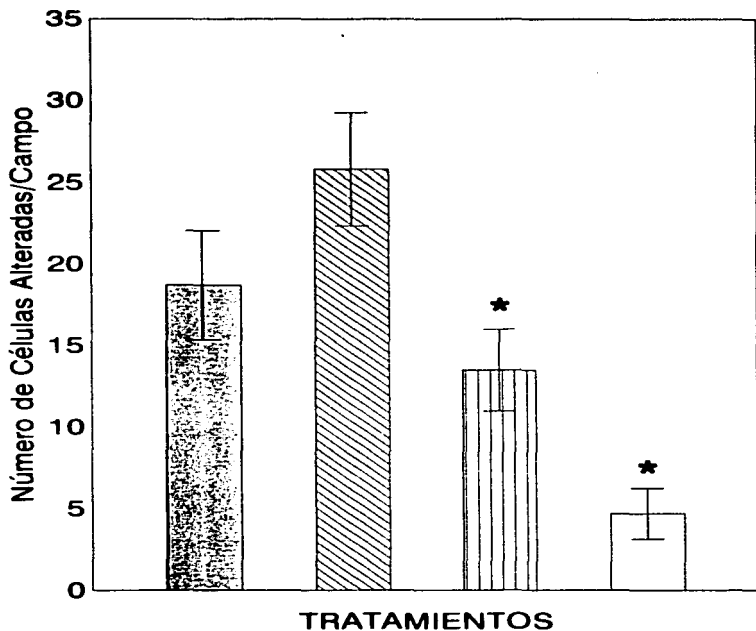


Tabla V.- Efecto de los tratamientos con AP y Dp en la citología de las ratas tratadas con talio.

CEREBELO

Tiempo Tratamiento	24 (horas)	48 (horas)	72 (horas)	7 (días)
TL	(80%) retracción celular (25%) hiper Cromacia (9%) joesinofilia (23%) núcleos condensados (9%) cromatídeos no hay edema	(80%) retracción celular (25%) hiper Cromacia (9%) joesinofilia (9%) núcleos condensados (9%) cromatídeos edema intersticial	(80%) retracción celular (15%) hiper Cromacia (20%) joesinofilia (18%) núcleos condensados (9%) cromatídeos edema intersticial	(30%) retracción celular (20%) hiper Cromacia (20%) joesinofilia (20%) núcleos condensados (10%) cromatídeos edema intersticial
TL+AP	(25%) retracción celular (20%) hiper Cromacia (18%) núcleos condensados (18%) joesinofilia (9%) cromatina alterada (20%) conservadas	(9%) retracción celular (26%) hiper Cromacia (20%) núcleos condensados (9%) joesinofilia (10%) cromatina alterada (20%) conservadas	(25%) retracción celular (18%) hiper Cromacia (18%) núcleos condensados (18%) joesinofilia (9%) cromatina alterada (20%) conservadas	(20%) retracción celular (10%) hiper Cromacia (10%) núcleos condensados (10%) joesinofilia (10%) cromatina alterada (20%) conservadas
TL+DP	(40%) retracción celular (20%) hiper Cromacia (20%) núcleos condensados (9%) cromatina alterada (20%) joesinofilia (50%) dendritas engrosadas no hay edema	(40%) retracción celular (20%) hiper Cromacia (10%) núcleos condensados (9%) cromatina alterada (10%) joesinofilia (9%) dendritas engrosadas edema intersticial	(26%) retracción celular (10%) hiper Cromacia (20%) núcleos condensados (25%) cromatina alterada (10%) joesinofilia (9%) dendritas engrosadas no hay edema	(10%) retracción celular (40%) hiper Cromacia (10%) núcleos condensados (20%) cromatina alterada (9%) joesinofilia (9%) dendritas engrosadas edema intersticial
TL+AP+DP	(9%) retracción celular (15%) hiper Cromacia (9%) núcleos condensados (9%) joesinofilia (80%) conservadas	(9%) retracción celular (18%) hiper Cromacia (18%) núcleos condensados (9%) joesinofilia (70%) conservadas	(10%) retracción celular (10%) hiper Cromacia (10%) núcleos condensados (8%) joesinofilia (88%) conservadas	(9%) retracción celular (9%) hiper Cromacia (9%) núcleos condensados (9%) joesinofilia (86%) conservadas



**TALIO** **TL+DP** **TL+AP** **TL+AP+DP**

GRAF.4 Células de Purkinje alteradas, cada barra representa el promedio  $\pm$  de 10 laminillas por grupo. Una dosis TL 32 mg/kg, dosis diaria DP 50 mg/kg, AP 100 mg/kg durante 5 días. \* significativo con respecto al grupo de talio  $p < 0.05$  (prueba de Mann-Whitney).

Tabla VI.- Resumen de los resultados obtenidos con los diferentes tratamientos

AREA	TALIO	TL+AP	TL+DP	TL+AP+DP
CORTEZA PARIETAL	(24%) retracción celular (18%) poeinofilia (18%) núcleos condensados (20%) hiperchromacia (25%) cromatina alterada (8%) dendritas flexuosas (8%) vacuolización edema intersticial	(20%) retracción celular (18%) poeinofilia (18%) núcleos condensados (18%) hiperchromacia (0%) cromatina alterada (8%) dendritas flexuosas (20%) vacuolización edema intersticial	(40%) retracción celular (40%) poeinofilia (18%) núcleos condensados (20%) hiperchromacia (10%) cromatina alterada (8%) dendritas flexuosas (8%) vacuolización edema intersticial	(10%) retracción celular (10%) poeinofilia (10%) núcleos condensados (10%) hiperchromacia (10%) cromatina alterada (8%) dendritas flexuosas (10%) vacuolización no hay edema
	(28%) retracción celular (40%) poeinofilia (28%) núcleos condensados (25%) hiperchromacia (40%) cromatina alterada edema intersticial	(28%) retracción celular (20%) poeinofilia (18%) núcleos condensados (18%) hiperchromacia (10%) cromatina alterada no hay edema	(18%) retracción celular (28%) poeinofilia (20%) núcleos condensados (20%) hiperchromacia (20%) cromatina alterada edema intersticial	(0%) retracción celular (0%) poeinofilia (10%) núcleos condensados (10%) hiperchromacia (10%) cromatina alterada no hay edema
TALAMO	(18%) retracción celular (28%) poeinofilia (28%) núcleos condensados (25%) hiperchromacia (72%) cromatina alterada (0%) edema celular (0%) fibras flexuosas edema intersticial	(18%) retracción celular (0%) poeinofilia (0%) núcleos condensados (0%) hiperchromacia (26%) cromatina alterada (0%) edema celular (18%) fibras flexuosas no hay edema	(10%) retracción celular (8%) poeinofilia (28%) núcleos condensados (20%) hiperchromacia (78%) cromatina alterada (28%) edema celular (10%) fibras flexuosas edema intersticial	(0%) retracción celular (0%) poeinofilia (0%) núcleos condensados (0%) hiperchromacia (10%) cromatina alterada (28%) edema celular (0%) fibras flexuosas no hay edema
	(80%) retracción celular (20%) poeinofilia (17%) núcleos condensados (26%) hiperchromacia (10%) cromatolisis (5%) cromatina alterada (0%) dendritas engrosadas edema intersticial	(28%) retracción celular (13%) poeinofilia (12%) núcleos condensados (20%) hiperchromacia (0%) cromatolisis (12%) cromatina alterada (0%) dendritas engrosadas edema intersticial	(41%) retracción celular (18%) poeinofilia (18%) núcleos condensados (40%) hiperchromacia (10%) cromatolisis (28%) cromatina alterada (50%) dendritas engrosadas edema intersticial	(10%) retracción celular (8%) poeinofilia (13%) núcleos condensados (13%) hiperchromacia (0%) cromatolisis (0%) cromatina alterada (0%) dendritas engrosadas no hay edema

## **DISCUSION**

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la administración aguda de talio produce alteraciones neuromorfológicas en corteza parietal, tálamo, hipocampo y cerebelo. Esto puede ser debido a que el talio sustituye al potasio en muchas funciones celulares, a través de la bomba sodio-potasio, o bien por su interacción con grupos químicos que contienen átomos donadores de electrones como el azufre y por los grupos sulfhidrilo libres [47; 29].

Al competir el talio con los grupos sulfhidrilos libres se pueden formar puentes disulfuro, esto a su vez puede alterar la actividad de las ATPasas y la forma y función de las proteínas estructurales [ 23; 53] como la queratina, una proteína estructural que se forma por la presencia de residuos de cisteína cuyos canales secundarios contienen grupos sulfhidrilos, estos grupos normalmente son oxidados a puentes disulfuro, este proceso es inhibido en presencia de talio, causando implicaciones clínicas como pérdida de cabello, anormalidades en el crecimiento de las uñas, produciendo las líneas de Mees [ 23; 47].

En el presente trabajo en los animales intoxicados con talio y tratados con D-Penicilamina se observó alopecia en el 50% de los animales 72 horas después de la intoxicación con el metal, en el grupo tratado con talio solo, se presentó en el 40% de las ratas, en comparación con los grupos tratados con azul de Prusia y el tratamiento combinado fue de un 20% y 10%, esto puede ser por la protección de ambos tratamientos a nivel de la circulación entero-hepática del metal [47].

En la tabla VI se muestra un resumen de los resultados obtenidos en este trabajo, como se puede apreciar el efecto de la combinación del azul de Prusia + D-penicilamina fué proteger más eficazmente a las células de las diferentes regiones estudiadas con respecto a los grupos con talio solo y con D-penicilamina sola, el grupo tratado con azul de Prusia solo presentó lesiones en un 30% de las neuronas. Monroy en 1991<sup>42</sup>, muestra experimentalmente en ratas el efecto del azul de Prusia en combinación con la D-penicilamina, observando menos contenido de talio en cerebelo e hipotálamo, con el tratamiento de D-penicilamina se observó un aumento de los niveles del tóxico, siendo éste significativamente mayor en el cuerpo estriado e hipotálamo, que en los respectivos controles tratados sólo con talio. Las observaciones realizadas son similares a las de Monroy y también apoyan los resultados de Kamerbeek<sup>31</sup>. Sin embargo, en éste estudio la región con menor número de células lesionadas fué el hipocampo, incluyendo el grupo de ratas tratadas con D-penicilamina y las áreas con mayor número de células lesionadas con el tratamiento de DP fueron: corteza parietal, cerebelo y finalmente tálamo.

En el presente estudio, se observaron algunas células con vacuolas en el citoplasma y otras con citoplasma altamente eosinofílico, esto puede deberse, a que las mitocondrias son particularmente susceptibles a los efectos tóxicos del talio [47], en especial los grupos precursores de la cistina de las membranas mitocondriales de las neuronas donde originan cambios estructurales importantes,

se destruyen las estructuras mitocondriales formandose grandes vacuolas y tumefacción celular [3].

Por otro lado, se observaron en el tálamo de ratas que fueron tratadas con D-penicilamina varias células edematosas. Esto probablemente se debe a que el talio modifica la acción de los segundos mensajeros como el  $\text{Ca}^{2+}$ , que es vital en la regulación de un gran número de procesos fisiológicos en la célula. El  $\text{Ca}^{2+}$  normalmente está en bajas concentraciones intracelulares, pero en presencia de talio hay una prolongada elevación del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, por uno varios mecanismos que inhiben la ATPasa  $\text{Na}^{+}+\text{K}^{+}$  y ATP [47;53]. Esta ATPasa genera el suministro constante de ATP para bombear  $\text{K}^{+}$  al interior y  $\text{Na}^{+}$  al exterior, al inhibirse esta enzima causa una regulación osmótica inadecuada [47], produciendo respuestas citotóxicas en varios tejidos [53].

La ATPasa también participa en la recaptura del neurotransmisor una vez que este se libera de la terminal nerviosa y se activa para el restablecimiento del potencial de reposo luego que ha ocurrido la despolarización. Si esta enzima está inhibida, el potencial de reposo no se recupera adecuadamente por lo cual la célula permanecería despolarizada por mayor tiempo, influyendo en la liberación excesiva del neurotransmisor, causando una desorganización metabólica en el cuerpo celular [14; 53], debido a esto se producen alteraciones en el citoplasma, axones y dendritas de las células nerviosas, como las encontradas en este estudio.

En los estudios realizados se detectaron pocas células con vacuolización citoplasmática, algunas con retracción celular, en los grupos tratados con talio y D-penicilamina, esto probablemente se debe a que el talio produce lesiones en las mitocondrias inducidas por la reducción del glutatión asociado con el

incremento de los grupos sulfhidrilos, y las proteínas que tienen disulfuros como la vasopresina, oxitocina y la insulina [23]; al reaccionar los grupos sulfhidrilos con el talio en la membrana mitocondrial, causan tumefacción, contracción celular, acumulación de pigmentos en el pericarión neuronal formando vesículas cilíndricas en el citoplasma por el descontrol de electrolitos al interior de las células [53]. También se observó en los grupos tratados T1 y con DP cromatolisis, esto se debe a que la sustancia de Nissl presenta cambios, o está ausente y el citoplasma se ve degenerado o bien es desplazado hacia la periferia [53].

La monoamino-oxidasa es un componente integral de la membrana externa mitocondrial y se encarga de la degradación de las catecolaminas como la dopamina, su actividad es dependiente de la preservación estructural del organelo, es importante señalar que la intoxicación con talio produce ruptura de la membrana como resultado del incremento de peroxidación de lípidos en el cerebro, esto ocasiona que la MAO quede expuesta y genere un incremento en su actividad [23], promoviendo así edema en la membrana mitocondrial [77], lo que causa la formación de grandes vacuolas en el citoplasma, similares a las encontradas en este estudio en los grupos tratados con T1, T1+DP y T1+AP.

Cabe mencionar que los ribosomas son estrictamente dependientes de  $K^+$  y  $Mg^{2+}$ , para una interacción normal entre las subunidades, se demostró que el talio interactúa de la misma manera que el potasio, va a producir una desestabilización progresiva en las subunidades  $60S$ , estas son en particular susceptibles a presentar daño irreversible, al ser incapaz de apoyar la síntesis de las proteínas y por inhibir la incorporación de aminoácidos en concentraciones bajas de  $K^+$  [14;47;53], produciendo alteraciones citoplásmicas como las encontradas en este estudio.



Los resultados obtenidos muestran desintegración y condensación de la cromatina en la mayoría de las neuronas, sobre todo en las del tálamo de ratas tratadas con talio y D-penicilamina. Se puede pensar que al inhibir la ATPasa va a alterar la síntesis de proteínas dependientes de potasio, esto modifica el transporte de proteínas a través de la membrana [47] y por otro lado el talio inhibe, las funciones RNA mensajero y de transferencia, debido a esto, se altera la integración de la cromatina [14].

Es importante mencionar que las fibras nerviosas también sufren graves alteraciones, debido que, al destruirse las estructuras mitocondriales se forman vacuolas y al juntarse crean cámaras largas y retraen secundariamente la mielina en los nodos de Ranvier y producen desplazamiento y destrucción en axones y dendritas [67], estos resultados apoyan a los encontrados en este trabajo.

También las membranas de las fibras musculares son sensibles al talio, ya que no pueden distinguir entre el talio y el potasio en concentraciones bajas y en niveles altos de TI; el daño es más grave y produce parálisis, asimismo, el talio afecta la excitabilidad del miocardio, el potencial de acción en las fibras nerviosas y la transmisión neuromuscular [46]. En el presente trabajo no se observó parálisis debido al corto lapso de observación (7 días) y la dosis utilizada, sin embargo en las ratas tratadas con talio y D-penicilamina, las fibras nerviosas presentan engrosamiento, fragmentación y desintegración, en el caso de las dendritas presentaron engrosamiento y reducción de algunas ramas secundarias y terciarias.

**Como ya se explicó, el talio inhibe y modifica diversos mecanismos bioquímicos que se llevan a cabo en las células, por lo que va a producir lesiones irreversibles sobre todo en el sistema nervioso central, causando graves daños neuronales.**

**Los efectos del azul de Prusia y la D-penicilamina en la neurotoxicidad causada por el talio**

En las ratas tratadas con talio +D-penicilamina, la mayoría de las células presentan lesiones tanto a nivel citoplásmico como nuclear, en comparación con las observadas en las ratas tratadas con la combinación de AP+DP. Prick en 1979<sup>53</sup> reportó resultados similares a los encontrados en este estudio. Estas observaciones eran las esperadas, puesto que al utilizar ambos tratamientos se produce una rápida eliminación del talio. El efecto observado en nuestro trabajo de la D-penicilamina es que a pesar de que induce rápida eliminación de los niveles de talio de los órganos, se incrementan las concentraciones de talio en el cerebro principalmente hipotálamo, mesencéfalo y cuerpo estriado [42], produciendo un efecto contrario al objetivo del tratamiento de la intoxicación [10; 42; 63], tal vez ésta sea la razón del agravamiento de los síntomas de origen neurológico, cuando se administra el quelante DP aislado, en la intoxicación en humanos [10; 63].

En relación al efecto del AP observado en las ratas tratadas se puede ver que protege significativamente a las ratas tratadas contra la neurotoxicidad, pero solo no es suficiente para prevenir la toxicidad del talio a esta dosis. Por lo que

observamos en nuestro trabajo, se puede decir que la utilización del AP en el cuadro clínico terapéutico de la taliotoxicosis presenta resultados satisfactorios, ya que disminuyó la sintomatología y los daños neuronales en las diferentes regiones estudiadas de las ratas intoxicadas con talio. Kamerbeek y col. en 1971<sup>31</sup>, muestran una disminución en la mortalidad, así como una menor concentración del metal en tejidos y órganos de ratas intoxicadas con nitrato de talio y tratadas con azul de Prusia.

Es importante mencionar que el tratamiento con azul de Prusia + D-penicilamina en la taliotoxicosis experimental, presenta resultados satisfactorios, puesto que disminuye la sintomatología y las lesiones neuronales en la taliotoxicosis [10;53]. En nuestros resultados se pudo evidenciar que hay un efecto favorable del hexaciano-férrato II férrico cuando es utilizado en combinación con la D-penicilamina como antídoto en la intoxicación aguda por acetato de talio, favoreciendo por un lado la sobrevivencia de los animales y por otro la protección de las neuronas, disminuyendo las lesiones del citoplasma y la cromatina de las células nerviosas de ratas intoxicadas con talio. Esto se debe a que el azul de Prusia interrumpe la circulación entero-hepática, inhibiendo el transporte del talio al torrente sanguíneo, formando el complejo TL+AP, que se va absorber en el tracto gastrointestinal y es eliminado por heces fecales [47], por otro lado la D-penicilamina permite una mayor movilización del metal de los órganos, lo captura el AP en el tracto gastrointestinal y así aumenta la excreción por vía urinaria y heces fecales en forma de complejo DP+TL+AP [20].

Con este trabajo se da a conocer una evidencia experimental de la falta de efectividad del quelante D-penicilamina aislado y de su alta eficacia cuando se combina con el hexacianoferrato II de hierro y potasio (azul de Prusia), en la intoxicación aguda por acetato de talio.

## **CONCLUSIONES**

**1.- El efecto de la D-penicilamina como antídoto aislado en el tratamiento de la talio toxicosis, aumentan las lesiones neuronales a nivel citoplásmico y nuclear como: eosinofilia, retracción celular, vacuolización, hipercromacia, crómátolisis y variación en el parámetro de la cromatina. Siendo el área más afectada la corteza parietal seguida de cerebelo, tálamo e hipocampo.**

**2.- La utilización de azul de Prusia presenta resultados satisfactorios, protege significativamente a las ratas tratadas contra la neurotoxicidad del talio, disminuye la sintomatología y las lesiones neuronales en un 60% en las diferentes regiones estudiadas de las ratas intoxicadas con acetato de talio, pero por sí solo no es suficiente para prevenir la neurotoxicidad a esta dosis.**

**3.- El tratamiento combinado con azul de Prusia y D-penicilamina tuvo la mayor efectividad de los tres tratamientos evaluados. protege en mayor porcentaje a las neuronas disminuyendo el daño de las células nerviosas de las ratas intoxicadas con talio, y por lo tanto favorece la sobrevivencia de los animales.**

**4.- La utilización del azul de Prusia en combinación con la D-penicilamina como antídoto presentó alta eficacia en la intoxicación aguda por acetato de talio.**

## **APENDICE**

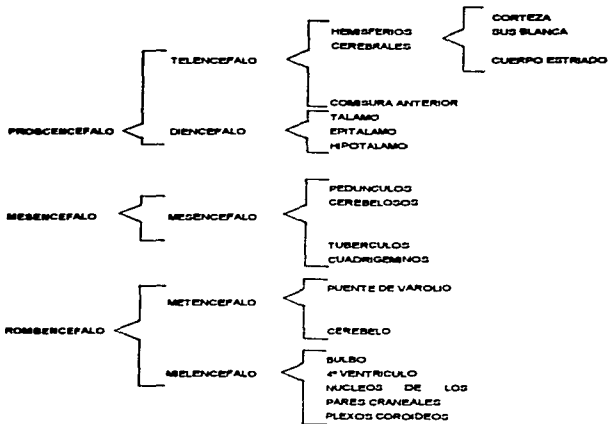
### **GENERALIDADES DEL SISTEMA NERVIOSO**

**El sistema nervioso se divide en sistema nervioso central y sistema nervioso periférico.**

El sistema nervioso central está formado por el cerebro y la médula espinal que aparecen durante el desarrollo embrionario de los vertebrados como un simple tubo neural que consta de una sola capa de células, seguido de las vesículas cerebrales primaria denominadas rombencefalo, mesencéfalo y prosencéfalo (cuadro # 1). Lo más notable en el desarrollo embrionario es la formación de cavidades en ambos lados, derecho e izquierdo, el telencefalo da lugar a los hemisferios cerebrales también. La porción central impar del prosencéfalo situada entre los hemisferios, y a partir del cual se divergen se denomina diencéfalo, al mismo tiempo que desarrolla el diencéfalo con su cavidad en el 3er ventriculo, las vesículas auditivas y las ópticas que presentan una elongación hacia la superficie de la cabeza y finalmente dan lugar a las dos retinas conectadas a la base del cerebro anterior por los nervios ópticos [45,75].

Encima del romboencéfalo se encuentra el mesencéfalo, que en los mamíferos incluye dos pares de estructuras que en conjunto forman una región de cuatro elevaciones conocida como: LAMINA CUADRIGEMINA, TECTUM, EL COLICULI INFERIORES Y CULICULLI SUPERIORES [48], (Fig. 17, cuadro 1.)

### CUADRO # 1



La subdivisión del cerebro anterior es el telencéfalo que formará los hemisferios cerebrales [75], que incluye el sistema olfatorio, el cuerpo estriado, un conjunto de núcleos de sustancia gris con funciones motoras, una capa superficial extensa de sustancia gris conocida como paleo o corteza cerebral y una sustancia blanca alojada dentro de los hemisferios [45], (fig. 17, 18, cuadro # 1).

El diencefalo lo constituye el tálamo y el resto el hipotálamo que se encuentra en una tercera región del diencefalo, el hipotálamo se caracteriza por su apéndice glandular denominado complejo hipofisiario. Se continúa en dirección proximal con el septum, una estructura que a pesar de su posición es mejor clasificarla como diencefálica [fig. 17, 18 ], (cuadro # 1. Tomado de López Antunez 1979).

El mesencefalo se extiende caudalmente desde la comisura posterior hasta el istmo del romboencefalo y se subdivide en tres componentes principales el tectum, tegmentum y los pedúnculos cerebrales. El tectum está situada dorsalmente y está compuesta de dos tubérculos cuadrigéminos superiores y dos inferiores (fig. 17,18), [34].

El metencefalo es la porción rostral del romboencefalo, se divide en el puente de varolio, este contiene muchos grupos nucleares dispersos con fibras descendentes que actúan como estaciones de relevo. El componente más grande del metencefalo es el cerebelo se desarrolla a partir del labio rómbico del tubo neural. El labio rómbico forma una zona de células intermedia entre la placa atar y la placa del techo en la flexura pontina. Estas células dan origen tanto a la corteza cerebelosa como a los nucleos cerebelosos profundos donde hacen relevo las fibras cerebelosas [34,45].

El mielencefalo contiene un vástago central tegmentario de grupos nucleares y de sistemas asociados de fibras, Es un centro para los núcleos de los pares craneales. Colabora con el puente en la regulación de los movimientos respiratorios. También tiene que ver con el control reflejo del sistema cardiovascular, con los reflejos eméticos



y con el equilibrio [34,45].

**LA CORTEZA CEREBRAL** se ha dividido en áreas de acuerdo a criterios filogenéticos, ontogénicos y funcionales, la corteza cerebral se subdivide en arquicortex, paleocortex, y neocortex. El paleocortex alcanza un desarrollo relativamente grande en la evolución temprana de los mamíferos, tiene un papel importante en la olfacción [49]. ( fig. 17).

El neocortex constituye la porción más importante de toda la corteza del hombre, esta constituida por seis láminas horizontales que derivan de las zonas ventricular y subventricular del telencéfalo reconocidas en forma convencional y numeradas de la superficie a la profundidad

1) Lámina molecular o plexiforme compuesta de fibras nerviosas orientadas tangencialmente

a la superficie cortical.

2) Lámina granular externa o capa de piramidales pequeñas.

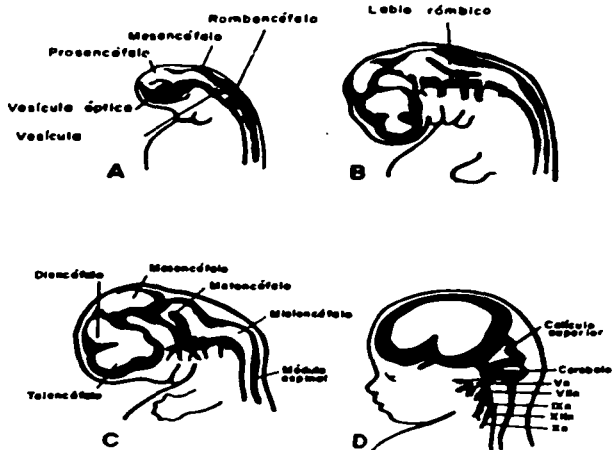
3) Capa de células piramidales grandes, medianas ó lámina piramidal externa.

4) Lámina granular interna, o de pequeñas células estrelladas y piramidales.

5) Capa profunda de grandes células piramidales, llamada lámina piramidal interna.

6) Capa de células fusiforme, o lámina multiforme

Las fibras aferentes que entran a la corteza son de dos clases generales: las fibras procedentes del tálamo y fibras de otra área cortical del mismo hemisferio o del opuesto. Las fibras corticales eferentes son axones de células grandes principalmente de las células piramidales y fusiformes (Fig. 18), [45, 48].



**DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO**

Fig. 17 (Tomado de Noback 1981).

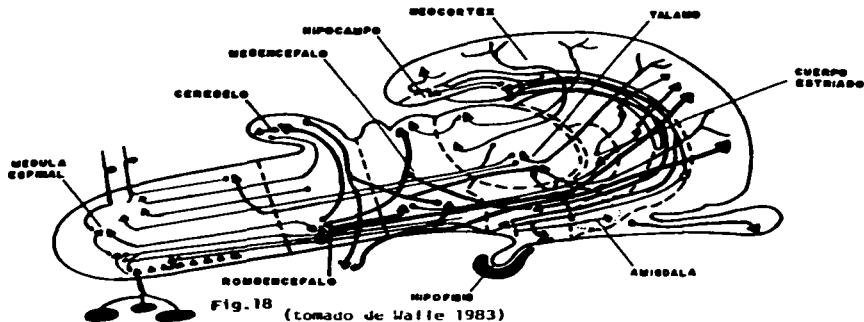


Fig.18 (tomado de Walle 1983)

## **CEREBELO**

**El cerebelo está situado en la parte posterior detrás de la base cráneo, se forma de una corteza, una sustancia blanca central y de cuatro pares de núcleos centrales que van a unir el cerebelo con el tallo cerebral, mesencéfalo, puente, y médula oblongada [45].**

**El cerebelo es un gran modulador y tiene a su cargo la coordinación de grupos musculares. A través de la regulación que ejerce sobre su tensión muscular y el gradiente de contracción, permite que acciones de los grupos musculares se hagan uniformes, se ha concebido como un órgano que recibe continuamente los impulsos de usos neurotendinosos y neuromusculares que le informan a cada momento el estado de tensión del sistema muscular. El cerebelo actúa como servomecanismo mediante sistemas de retroalimentación negativa que funcionan para evitar oscilaciones durante el movimiento y por lo tanto mantiene estabilidad [45].**

**La expresión funcional del cerebelo se lleva a cabo a través del equilibrio, el tono y los movimientos voluntarios, este equilibrio y tono son utilizados, tanto en las actividades estáticas como en la postura erecta, la posición sentada y el balanceo corporal [75]. La facilitación del tono de los músculos extensores se lleva a cabo a través de conexiones con los núcleos vestibulares laterales cuya inhibición ejerce a través de conexiones con otros núcleos reticulares [45].**

**Los movimientos voluntarios se llevan a cabo a través del circuito de retroalimentación cerebro-neocerebelo-cerebro y el tracto córtico espinal constituye la mayor vía a través de la cual se expresa la acción del neocerebelo ( figs. 18 ) [49].**

## **TALAMO**

El tálamo esta formado de sustancia gris que se subdivide en varios núcleos en cuanto a sus conexiones y a la secuencia de su desarrollo filogenético. Ciertos núcleos talámicos reciben impulsos sensitivos específicos de los sentidos del gusto, visión y oído. Estos núcleos proyectan sus vías a las áreas sensitivas de la corteza cerebral, están relacionados fisiológicamente con áreas de asociación de la corteza y tienen un papel en el sistema reticular activador (fig. 17 y 18). [45].

El tálamo mide cerca de 3 cm en sentido anteroposterior y 1.5 cm. en las otras dos direcciones ocupa cuatro quintas partes del diencefalo; esta formado por la lámina medular externa que es una capa delgada de fibras nerviosas que cubre la superficie lateral y la capa medular interna, formada principalmente de fibras que pasan de un núcleo talámico a otro, dividiendo al tálamo en tres areas grises [45].

El tálamo es un complejo de estaciones nucleares de procesamiento que coordinan y regulan la actividad funcional de la corteza cerebral, y muchos nucleos talámicos reciben gran parte de sus impulsos por medio de conexiones directas o indirectas de la corteza cerebral (fig. 18), [45,49].

El tálamo tiene un papel importante en la proyección de impulsos determinantes hacia la corteza relacionada con las actividades motoras somáticas (corteza motora y premotora) [75, 45], es un núcleo con conexiones aferentes y eferentes de estructuras subcorticales, cuerpo estriado y la corteza cerebral, con el lóbulo límbico y la corteza prefrontal. Interviene en forma útil en los estados afectivos y emocionales y cognoscitivos [45, 75].

## **HIPOCAMPO**

El hipocampo se desarrolla en el cerebro fetal por un proceso de continua expansión del borde medial del lobulo temporal del rinencéfalo (cuadro # 1 y Fig. 17) el giro llega a ocupar el piso del cuerpo inferior del ventrículo lateral. tiene forma de "C" en un corte frontal. El semeja un cuerno de carnero, debido a ello algunas veces el hipocampo fue llamado cuerno o asta de Amón. La superficie ventricular del hipocampo está formada por una capa delgada de sustancia blanca llamada " Alvues", la cual se forma de fibras nerviosas que se originan en la corteza hipocampal. Las fibras van sobre el hipocampo hasta el borde medial donde se reunen con la fimbria del hipocampo [48, 75].

### **Conexiones aferentes**

La formación hipocampal recibe muchas fibras de la corteza del giro parahipocampal y esta última está en comunicación con áreas extensas a través de la sustancia blanca [75].

### **Conexion eferente del hipocampo**

Las conexiones que llevan datos a la formación hipocampal desde la corteza cerebral generalmente corresponden a las fibras de asociación a través de las cuales la actividad en la formación hipocampal se distribuye a otras regiones de la corteza cerebral (fig. 18 ) [45, 75].

El hipocampo esta interconectado con muchas regiones (Fig. 18), de manera general, la entrada de impulsos a este complejo se hace a través de, la corteza temporal adyacente, de la región septal, desde el hipocampo del lado opuesto, la salida de impulsos del hipocampo se hace principalmente a través de los axones de las células piramidales que forman el fornix, hacia el hipocampo del lado opuesto [45, 75] fig. 18.

## BIBLIOGRAFIA

1. Achenbach, C. Huaswirth, O., Heidrichs, C., Ziskoven, R., Kohler, F. Bahr, U., Heidrichs, A., Schulten, H. (1980). Quantitative measurement of time dependent thallium distribution in organs of mice by field desorption mass spectrometry. J. Toxicol. Environ. Health. 6:519-528.
2. Aoyama H., (1989). Distribution and excretion of thallium oral and intraperitoneal administration of thallous malonate and thallous sulfate in hamsters, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 42:456-463.
3. Bank W.J., Pleasure E.D., Kinuko S., Nigro M., Katz R., (1972). thallium poisoning. Arch. Neurol. 26:456-464.
4. Barroso-Moguel R., Villeda-Hernandez J., Méndez-Armenta M., Ríos C., Monroy-Noyola A. (1994) Combined D-penicillamine and prussian blue as antidotal treatment against thallotoxicosis in rats: evaluation of cerebellar lesions. Toxicol. 89:15-24.
5. Bibikova, V.I., Gornova, Z.A., Darvoid T.V., Kasatkina, I.A. Nikitina, Z.M. Postnikova, S.V., Deznik P.A., (1959) Difused metals (Indium, Galium, Thallium, Rhenium) current and possible use. Mosc.: 27-40.
6. Bihouskaya, M.S., Ginzburg, S.L. Khalizova, O.A. (1966) Methods of determination of hazardous compounds in air. Mosc. Meditsina Publ. 216-218.
7. Boudling E.J., Baker, A. (1957). The treatment of metal poisoning with penicillamine. Lancet 16:985.
8. Clarkson, T.W., (1987). Metal toxicity in the central nervous system. Environ. Health. Persp. 75:59-64.
9. Careaga Olivares and González Ramires D., (1995). Penicillamine produces changes in the acute blood elimination and accumulation of thallium. Arch. Med Res. 26:427-430.
10. Cavangh, J.V., Fuller N. H., Jhonson H.R and Rudge, P. (1974). The effects of thallium salts, with particular reference to the Nervous System Changes. Quart. J. of Med. New Series, XLIII .No. 170, pp 293-319.

11. Cotton, A. and Wilson, G. (1976). *Química inorgánica avanzada*, Ed. Limusa, México 1161 pp.
12. Chamberlain H.-P., Stavinoha B.S., Davis H., Knifer T.W. and Panos T.C., (1958) Thallium poisoning, *Pediat.* 22:1170-1182.
13. Davis, L.E., Standefer, L.C., Kornfeld, M., Abercrombie, D M., and Butler, C., (1981). Acute thallium poisoning: toxicological and morphological studies of the nervous system, *Ann. Neurol.* 10: 38-44.
14. Douglas K.T., Bunni M.A., Baidir, S.R. (1990). Thallium in biochemistry. *Int. J. Biochem.* 22(5): 429-438.
15. Favari L., and Mourelle M. (1985) Thallium replaces potassium, in activation of the (Na K)-ATPase of rat liver plasma membranes *J. Appl. Toxicol.* 5(1):32-34.
16. Grigorovich, A.N. (1960). Thallium and its industrial production, *Alma-Ata.* pp.112-124.
17. Grunfeld, O. and Hinostroza G., (1964) Thallium poisoning. *Arch. Inter. Med.* 114:132-138.
18. Hasan M., Chandra S.V., Bajpai V.K. and Ali S.F. (1977). Electron microscopic effects of thallium poisoning on the rat hypothalamus and hippocampus: Biochemical changes in the cerebrum. *Brain Res.* 2: 255-261.
19. Hasan M., Chandra S.V., Dua P.R., Rachubir R., and Ali S.F., (1977) Biochemical and electrophysiologic of thallium poisoning on the rat corpus striatum. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 41:353-359.
20. Harvittig P. (1984). Chemical principles of chelate therapy in neurotoxicology. *Acta Neurol. Scand.* 70: 199-202.
21. Henning C., Baker G. and Forth W. (1982) Movement of thallium (Tl) ions across the epithelium of intestinal segments in vitro of rat. Naunnyn-Schemiedeberg's *Arch. Farmacol.* 321: 157-163.
22. Herman G., (1955). Tallotoxiosis, *Pediat.* 16:868-872.



23. Herman M.M., Bensch K.G., (1967). Light and electron microscopic studies of acute and chronic thallium intoxication in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 10:199-222.
24. Heyl T., and Barlow R.J., (1989). Thallium poisoning: a dermatological perspective. Brit. J. Derm. 121:787-792.
25. Heydlauf H., Metz, K. and Briggs, R. (1969). Ferric-cyanoferrate (II): an effective antidote in thallium poisoning. Eur. J. Pharmacol. 61:340-344.
26. Hollinshead (1983). Anatomia Humana, 3a. edic. Karla. México. 1013 pp.
27. Izmerov F., (1982). Thallium. Centre of international projects, GKNT. Mosc. 25 pp
28. Jensen J. and Norby, J., Kjersulf Jensen K., (1945). On the relation between goitrogenic effects and chemical constitution. Acta Pharmacol. 1: 285-289 pp.
29. Juárez A. G., Manso P.E. y Díaz L.P.M., (1988). Intoxicación grave por talio. Presentación de un caso y revisión de su manejo. Rev. Med. I.M.S.S. 26:315-319.
30. Kadota I., (1950). Studies on experimental diabetes mellitus as produced by organic reagents. J. Lab. Clin. Med. 35:568-572.
31. Kamerbeek H., Rauws A., G.M. Ten Ham and A. N. P. van Heijst, A. (1971) Prussian blue in therapy of thallotoxicosis. Acta Med. Scand. 189: 321-324.
32. Kourim V., Rais J., and Million B. (1964) Exchange properties of complex cyanides I. Ion exchange of cesium on ferrocyanide. J. Inorg. Nuclear. Chem. 26(1111):123-133.
33. Kravsov J., Rios C., Altgracia M., Monroy N:A., López F., (1993). Relationship between physicochemical properties of Prussian blue and efficacy as antidote against thallium poisoning. J. Appl. Toxicol. 13(3):213-216.
34. López A. L. (1979). Anatomía funcional del sistema nervioso. Limusa México.
35. Lund A., (1956) Distribution of thallium in the organism and its elimination. Acta Pharmacol. 12:251-259.

36. Lohman H., Csicsaky M. and Wiegand H., (1989). The action of thallium on the excitability of CA1 pyramidal cells in hippocampal slices. Neurotoxicol. and Teratol. 11: 545-549.
37. Madshus K., Stromme A., Bohne F. and Nigrovic V., (1966). Diminution of radiocaesium body burden in dogs and human beings by prussian, lutern. J. Radiation. Biol. 10:519-520.
38. Madshus K. and Stromme A. (1968). Increased excretion of 173cs in humans by Prussian blue. Z. Naturforsch. 23 b:391-398.
39. Marwaha J., Freedman R., and Hoffer B. (1980). Electrophysiological changes at a central Noradrenergic synapse during thallium toxicosis. Toxicol. Appl. Pharm. 56:345-352.
40. Moeschlin S., (1980). Thallium Poisoning. Clin. Toxicol. . 17 (1):133-146.
41. Monroy N.A., (1991). Evaluación experimental del azul de Prusia y la D-penicilamina como antidotos en la taliotoxicosis aguda en rata: Estudio de mortalidad y distribución del metal en órganos. Tesis de licenciatura UNAM. Mex
42. Monroy N.A and Ríos C., (1992). D-penicilamine and Prussian blue as antidotes against thallium intoxication in rats. Toxicol. 74: 69-76.
43. Montoya C.M.A., López M. G. y García R.M., (1983) Intoxicación por talio. Rev. Méd. IMSS. México 23: 65-70
44. Montoya C.M.A., Pérez L. C., Badillo T. F.J., Barquet B.R.M. y López B. J., (1979). Intoxicación por talio, tratamiento con D-penicilamina. Rev. Méd. IMSS. México. 18:211-214.
45. Murray I.B. (1974) El sistema nervioso humano, Ed. Karla., México. 263 pp.
46. Mullins L.J., Moore R.D. (1960). The movement of thallium ions in muscle. J.Gen Phys. 43:759-773.
47. Mulkey P. J. and Frederick W. O., (1993). A review of thallium toxicity. Vet Human 35(5) :445-453.

48. Nigrovic V., (1965). Retention of radiocaesium by the rats as influenced by prussian blue and other compounds. Phys. Med. Biol. 10:81-89.
49. Noback Ch. R., (1981) Sistema nervioso humano. Ed. Mc Graw-Hill, México 395 pp.
50. Oeme F. (1972). Mechanisms of heavy metal toxicities. Clin. Toxicol. 5:151-167.
51. Osorio R. L., S. Galván-Arzate and C. Ríos. (1995). Thallium increases monoamino oxidase activity and serotonin turnover in brain regions. Neurot. and Teratol. 17:1-5.
52. Paulson G., Vergara G., Young J., and Bird M., (1972). Thallium intoxication treated with dithione and hemodialysis. Arch. Int. Med. 129:100-103.
53. Prick J. (1979) Thallium Poisoning. Handbook of Clinical Neurology. 36 239-278.
54. Rangel G. R., Martínez R. R.H., Villarreal V.H.J., (1980) Intoxicación por talio. Arch. Invest. Méd. 32:381-389.
55. Rangel G.R., Martínez H., Villarreal V.H.J., (1990) Intoxicación por talio. Gac. Méd. México. 126(6):487-495.
56. Rauws A. (1974). Thallium pharmacokinetics and modification by prussian blue. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 284:295-306.
57. Reed D., Crawley J., Faro S., Piepier S., and Kurland L. (1963). Thallotoxicosis: acute manifestations and sequela. J. Am. Med. Assoc. 183:516-522.
58. Ríos C., Galván A.S. and Tapia R., (1989). Brain regional thallium distribution in rats acutely intoxicated with Tl<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>. Arch. Inst. Nac. Neurol. México. 4(1):83-87.
59. Ríos C., Kravsov J., Altagracia M., López F., Monroy A., (1990). Evaluación de la efectividad del azul prusia coloidal como antidoto contra la intoxicación de talio. Rev. Mex. Cienc. Farm. 21(4):13-16.

60. Ríos C., Kravsov J., A:tagracia M., López N.F., Monroy A., (1991). Efficacy of Prussian blue against thallium poisoning: effect of particle size. Proc. West. Pharmacol. 34:61-63.
61. Ríos C. and Monroy N.A. (1992). D-penicilamine and Prussian blue as antidotes against thallium intoxication in rats. Toxicol. 74:69-76.
62. Richelmi P., Bono F., Guardia L., Ferrini B., and Manzo L. (1980) Salivary Levels of thallium in acute human poisoning. Arch. Toxicol. 43:321-325.
63. Saddique A., Peterson C., (1983). Thallium poisoning: A review. Vet. Hum. Toxicol. 25:16-22.
64. Shvartsev S.L., Gomonova L.N. (1975) Thallium in brains of the Angaro-Lensky Artesian Basin, Reports to the URSS Academy of sciences. 220:1183-1185.
65. Smith D.H., Doherty R.A., (1964). Thallotoxicosis: report of three cases in Massachusetts. Pediat. 34:480-490.
66. Smith P. R., Schou O.A., Gade F.L., Solgaard P., and Larse E., (1978). Thallium intoxication treated with long-term hemodialysis forced diuresis and Prussian Blue. Acta Med. Scand. 204:429-432.
67. Spencer S.P., Raine S.C., Peterson R.E., (1973) Effects of thallium on axonal mitochondria in cord -ganglion-muscle cultures. J. Cell. Biol. 58:79-85
68. Stevens W. Van Peteghem C., Heyndrickx A. and Barbier F., (1974) Eleven cases of thallium intoxication treated with Prussian blue. Int. J. Clin Pharmacol. 10:1-22.
69. Tikhova T., (1967). Thallium and compounds. Modern data on toxicology of rare metals and their compounds. Mosc. "Medetsina" Publ. 24-34.
70. Thompson D. (1981) Management of thallium poisoning. Clin. Toxicol. 18(8):979-990.
71. Thompson D. (1988) Effects of thallium poisoning on intellectual function. Br J. Psychiatry. 153:396-399.
72. Thyesson ., (1951). Experimental investigation on thallium poisoning in the rats. Acta. Derm. Vener. 31: 3-27

73. Van Hess, Jensen A., Fennis J., and Van Laar T. (1975). Forced diuresis in thallium intoxication. J. Med. 18:125-130.
74. Wainwright A., Kox W., House I., Henry J., Heaton R., and Seed W., (1988). Clinical features and therapy of acute thallium poisoning. Quart. J. Med. New Series 69(258):939- 934.
75. Walle J., H., and Feirtag M., (1983) Organización del cerebro En: El Cerebro. Investigación y Ciencia, Ed. Labor, Barcelona, pag. 53-55.
76. Winter S., Laron Z., and Michaelson I. (1954). Renal and vascular disturbance on a case of thallium poisoning. Arch. Dis. Child. 29:443-446.
77. Woods S.J., and Flower B.A. (1986). Alteration hepatocellular structure and function by thallium chloride: Ultrastructural, morphometric, and biochemical studies. Toxicol. Appl. Pharmacol. 83:218-229.
78. Yokoyama K., Araki S., and Abe H., (1990). Distribution of nerve conduction velocities in acute thallium poisoning. Muscle and Nerve. 13:117-120.



## Combined D-penicillamine and prussian blue as antidotal treatment against thallotoxicosis in rats: evaluation of cerebellar lesions

Rosario Barroso-Moguel<sup>a,\*</sup>, Juana Villeda-Hernández<sup>a</sup>,  
Marisela Méndez-Armenta<sup>a</sup>, Camilo Ríos<sup>b</sup>, Antonio Monroy-  
Noyola<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Neuromorfología Celular,

<sup>b</sup>Departamento de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, SSA, Insurgentes  
sur No. 3877, México 14269, D.F., México

<sup>c</sup>Departament de Toxicologia e Higiene Industrial, Instituto Nacional de Salud Pública, México,  
México

(Received 18 May 1993; accepted 7 September 1993)

---

### Abstract

Rats were treated with a single dose of thallium acetate (32 mg/kg i.p.) and the antidotal effect of D-penicillamine and prussian blue given alone or in combination was assessed by means of evaluation of the thallium-induced cerebellar histological lesions. After thallium poisoning (24 h), antidotes were administered for 4 days as follows: D-penicillamine (DP) 25 mg/kg, i.p. twice daily; prussian blue (PB), 50 mg/kg p.o., twice daily. Mortality among the treatment groups was as follows: control, 87.5%; DP, 100%; PB, 56.25%; DP + PB, 25%. Three days after these treatments, rats treated with the combination DP + PB presented a significantly lower number of altered Purkinje cells in cerebellum as compared with those of the thallium alone treated animals, indicating adequate protection by this antidote treatment against thallium neurotoxicity. Prussian blue protected against thallium-induced neurotoxicity to a lesser extent as compared with the effects obtained by the DP + PB protection. DP did not protect against thallium-induced alterations of Purkinje cells. These results confirm the efficacy of the combined antidotal treatment of DP and PB against thallium toxicity in rats, and support the possible application in human cases of thallotoxicosis.

**Key words:** Thallium; Thallium antidotes; Neurotoxicity; Cerebellum; Purkinje cells; D-penicillamine; Prussian blue

---

\* Corresponding author.

## 1. Introduction

Most cases of human thallotoxicosis occur as a result of acute ingestion of products containing thallium salts, such as rodenticides, or Clerici's solution (Marmo et al., 1987). Many of these cases are fatal (Aoyama et al., 1986) due to the high toxicity of the metal; the estimated lethal dose for humans is 8-10 mg/kg (Moeschlin, 1980). Thallium poisoning has been reported to cause neurological and cardiovascular abnormalities (Roby et al., 1984). Neurological symptoms due to thallium acute ingestion include peripheral neuropathy, affecting motor function of the lower limbs (Yokoyama and Abe, 1990), followed by cerebellar ataxia (Wainwright et al., 1988) and intellectual impairment (Thompson et al., 1988). In most cases of human thallotoxicosis, very modest improvement is achieved after the initial damage (Prick, 1979). The need for new therapy against this poison called for further research and led us to investigate the possible beneficial effects of combined D-penicillamine and prussian blue treatment. Results of this study revealed the favourable effects of the combination treatment to antagonize thallium-induced lethality in rats (Rios and Monroy-Noyola, 1992). In addition, D-penicillamine and prussian blue treatment induced removal of thallium from organs without redistribution of the metal to brain effect. Redistribution from inactive depots to brain is a shortcoming of chelation therapy against thallium poisoning (Kamerbeck et al., 1971).

This report presents an histological evaluation of thallium-induced damage to neurons in groups of thallium-poisoned rats treated with D-penicillamine, prussian blue or both in combination, in order to further characterize the antidotal efficacy of these compounds.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Reagents

Thallium (I) acetate, D-penicillamine, Tween-80 were obtained from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Prussian blue  $K_4Fe(CN)_6$  was obtained from Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI). All other reagents were from E. Merck (México).

### 2.2. Animals

Male Wistar rats, NIH bred-in-house strain, weighing 200-250 g were used in all experiments. They were fed a standard chow diet (Purina chow) and had free access to water. Room darkness was maintained between 19:00 h and 7:00 h, room temperature at 25°C and relative humidity at 40%.

### 2.3. Antidotal treatments

Eighty-four rats were poisoned by means of a single thallium acetate injec-

tion i.p. (dose = 32 mg/kg) on day 1. Antidotal treatments were administered from day 2 to day 5 for the mortality study. The thallium dose employed in these experiments was the median lethal dose previously reported (Rios and Monroy-Noyola, 1992). The number of dead animals in the different groups was recorded for 6 days after thallium injection. For histological examination, 5 rats were killed from each treatment group on day 4. This day was chosen because animals from the D-penicillamine group had deteriorated and many of them died in days 5-7.

After thallium poisoning, rats were divided into 4 groups of 21 animals each: Group C, control animals, treated with vehicle; Group DP, animals injected i.p. with 25 mg/kg D-penicillamine in 1 ml dissolved in saline solution, twice daily; Group PB, animals orally treated with 1 ml of prussian blue (dose = 50 mg/kg) suspended in 1% Tween-80, twice daily; Group PB + DP, animals given DP and PB in combination at the same doses and routes already described for the DP and PB groups. Antidote treatment began 24 h after thallium poisoning. All treatments were administered at 10:00 h and 18:00 h daily. An additional group of 5 animals was treated with vehicles and killed on day 5 for histological examination of the normal cerebellar cells.

#### 2.4. Histological evaluation

For histological study, rats from the treatment groups were anesthetized with 0.3 ml of 3.5% chloral hydrate i.p. and then perfused through the heart with cold saline solution, followed by 10% w/v formaldehyde solution at 4°C. Brains were dissected out and kept in the same fixative for 15 days. The whole brain (including cerebellum) was embedded in paraffin and 5-7  $\mu$ m sections prepared. Silver staining was applied as described earlier (Barroso-Moguel and Costero, 1962).

After processing for histological examination, sections of cerebellum were selected to obtain random fields containing Purkinje cells from each rat. Purkinje cells are a target of thallium-induced damage since alterations in their normal electrophysiologic activity after thallium administration have been reported in rats (Marwaha et al., 1980).

For quantitative assessment of the lesions, the folia from the posterolateral part of the right cerebellar hemisphere were observed. The number of altered Purkinje cells in the cerebellar folia was recorded as the average of three sections from each animal. In order to eliminate operator bias in selecting the fields, random numbers were obtained from a pocket calculator to choose the sections. Altered Purkinje cells were those presenting shrinking, pyknotic appearance and surrounding interstitial oedema.

#### 2.5. Statistics

Results from the mortality study were analyzed by  $\chi^2$ -test. The number of altered Purkinje cells among groups was analyzed by non-parametric



Table 1  
Mortality among treatment groups

Treatment	Mortality	Significance
Control	14/16 (87.5%)	
D-Penicillamine (DP)	16/16 (100%)	n.s.
Prussian blue (PB)	9/16 (56.25%)	n.s.
DP + PB	4/16 (25%)	**

\*\*Different from control,  $P < 0.01$ ,  $\chi^2$

analysis of variance (Kruskal-Wallis test) followed by multiple comparisons using Mann-Whitney's test (Steel and Torric, 1969).

### 3. Results

Mortality among the different treatment groups is shown in Table 1. As can be observed, the combination treatment with D-penicillamine and prussian blue significantly decreased the thallium-induced mortality as compared with the group of rats treated only with thallium. D-penicillamine alone did not protect against thallium toxicity. Prussian blue reduced thallium lethality, but the reduction was not statistically significant.

Histological examination of the Purkinje cells indicated that D-penicillamine and prussian blue combination treatment protects rats against thallium-induced cellular alterations, as can be observed in Fig. 1. Thallium-

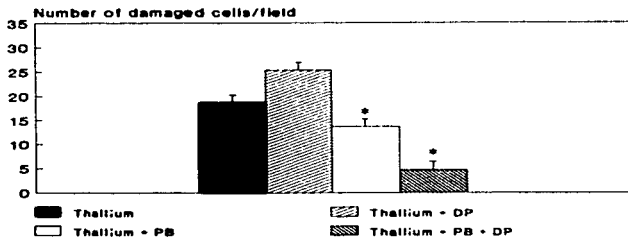


Fig. 1. The number of damaged Purkinje cells after experimental treatments. Rats were administered with thallium acetate (32 mg/kg, i.p.) and 24 h later with: PB, prussian blue; DP, D-penicillamine; PB + DP, prussian blue + D-penicillamine. Results are means  $\pm$  one S.D. of  $n = 5$  rats per group. \* Significantly different from thallium group. Mann-Whitney test.

intoxicated animals treated with the combination treatment presented a significantly lower number of altered Purkinje cells as compared with those rats treated with thallium (see Fig. 1). D-penicillamine treatment increased the number of altered Purkinje cells as compared to rats treated with thallium alone, but this increase was not statistically significant (see again Fig. 1). The average number of altered Purkinje cells in the group of animals treated with D-penicillamine is 88% of the total cells of the field. The prussian blue treatment significantly protected rats against thallium neurotoxicity to a lesser extent than the protection achieved by the combination of D-penicillamine with prussian blue, suggesting that prussian blue alone is not sufficient to prevent the neurotoxicity of thallium at the tested dose.

Figs. 2-6 show the appearance of representative Purkinje cells after the different experimental treatments. Fig. 2 is from the cerebellum of a control rat showing the normal appearance of Purkinje cells. Fig. 3 is a micrograph from a thallium-intoxicated animal showing pyknosis in Purkinje cells, interstitial oedema and oedematous Bergmann glia (see arrows, Fig. 3). The molecular and granular layers also show oedema that make it difficult to visualize the individual cells within these layers. Severe interstitial oedema was observed in the group of rats treated with D-penicillamine alone (Fig. 4) and pyknotic cells are seen in this group with many neurons undergoing shrinking of the cytoplasm. At a lower magnification (Fig. 7), the granular



Fig. 2. Cerebellar tissue showing the normal appearance of cells in an untreated control rat. (Rio-Hortega modified stain,  $\times 100$ )



Fig. 3. Cerebellum from a thallium treated rat. The Purkinje cells are pyknotic and shrunken. Severe oedema is present in both granular and molecular layers. Pyknotic Purkinje cells are marked with arrows. E, Oedema area. (Rio-Hortega modified stain,  $\times 100$ )

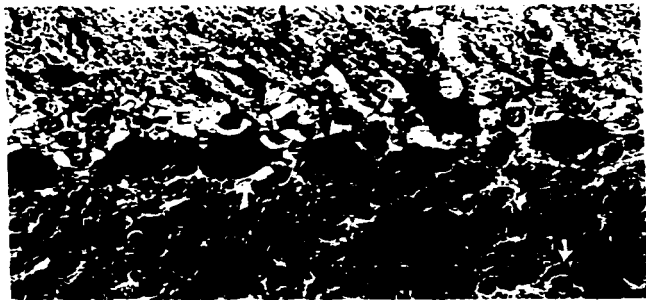


Fig. 4. Cerebellum from a thallium + D-penicillamine treated rat. All Purkinje cells shown are pyknotic and interstitial oedema is extensive. Pyknotic Purkinje cells are marked with arrows. E, Oedema area. (Rio-Hortega modified stain,  $\times 100$ )

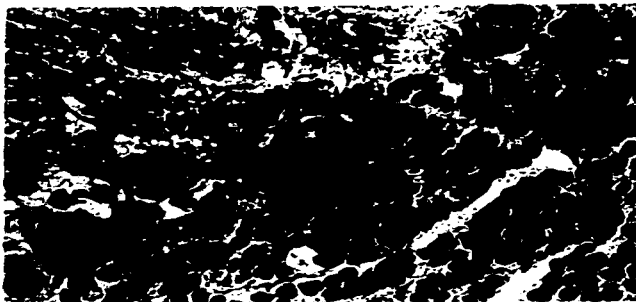


Fig. 5. Cerebellum from a thallium + prussian blue + D-penicillamine treated rat. Purkinje cells are well preserved, and slight oedema is observed. Pyknotic molecular cells are marked with arrows. E. Oedema area. (Rio-Hortega modified stain,  $\times 100$ )

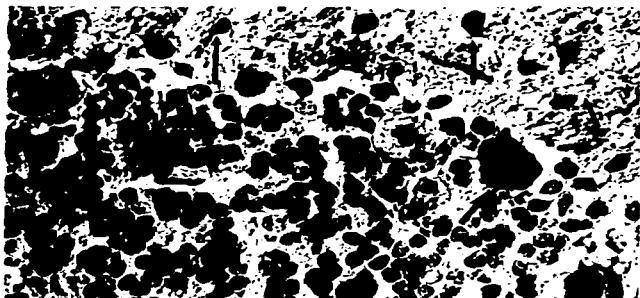


Fig. 6. Cerebellum from a thallium + prussian blue treated rat. Few pyknotic Purkinje cells are present and interstitial oedema is also observed. Pyknotic Purkinje and molecular cells are marked with arrows. E. Oedema area. (Rio-Hortega modified stain,  $\times 100$ )



Fig. 7. Cerebellar folia from a thallium + D-penicillamine treated rat. Pyknotic Purkinje cells are marked with arrows. E, Oedema area. (Rio-Hortega modified stain,  $\times 20$ )

layer shows intense oedema and several pyknotic neurons. In Fig. 7 there can be observed frequent areas of oedema and pyknosis as a result of the thallium-induced toxic effect in the D-penicillamine treated animals. Fig. 8 shows at a higher magnification the thallium-induced damage to the granular cells. The combination of D-penicillamine and prussian blue protected against thallium-induced effects (Fig. 5). Minimal interstitial oedema is observed and a few pyknotic cells are present. No shrunken cells are observed in the different layers and the granular layer is particularly well-preserved. Prussian blue treatment produced an intermediate protection against thallium neurotoxicity (Fig. 6). The molecular layer showed a few pyknotic and shrunken Purkinje cells.

#### 4. Discussion

Results of this study confirmed and extended previously reported protective effects of the combination of D-penicillamine and prussian blue against thallium-induced toxicity (Ríos and Monroy-Noyola, 1992). There was a direct relationship between thallium-induced lethality and thallium-induced neurotoxic effects on cerebellar cells, suggesting that thallium neurotoxicity could be related directly to mortality of the animals. The mechanism by

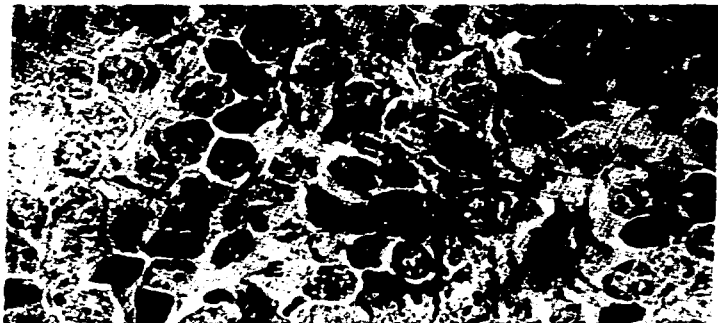


Fig. 8. Granular cells from a thallium + D-penicillamine treated rat, showing pyknotic cells (arrows) and interstitial oedema (E). (Rio-Hortega modified stain,  $\times 500$ )

which the D-penicillamine and prussian blue combination treatment may exert its protection against thallium neurotoxicity could be the accelerated excretion of the toxic metal induced by this treatment, as shown in our previous report (Ríos and Monroy-Noyola, 1992).

In our previous study we found that the 32 mg/kg dose employed for the present work is an estimate of the median lethal dose (Ríos and Monroy-Noyola, 1992). However, this dose killed 87.5% of the animals (Table 1). This value was not statistically different from the nearly 50% mortality produced by thallium in the presence of prussian blue (Table 1), indicating that this difference, even when high, could be attributed to small experimental variations, as for example, a higher purity of the thallium acetate employed.

According to Prick (1979), oedema and scattered loss of Purkinje cells are frequently found in fatal human cases of thallosis. This author also described that various forms of pyknosis may develop, indicating a remarkable similarity between alterations found in the present study and alterations observed in human cases of thallium poisoning. We have studied in a previous work the thallium-induced lesions in several brain structures (Barroso-Moguel et al., 1990). Results of this study indicate that the main alterations occur in cortex, hippocampus and cerebellum.

Amongst the treatments against human thallium poisoning, prussian blue

is considered the drug of choice due to its efficacy and lack of side effects (Thompson, 1981). However, the experimental evidence presented here indicates that this treatment does not protect completely against the cell damage induced by thallium. The protection exerted by the combination treatment of D-penicillamine and prussian blue suggests that this could be a treatment of choice against human thallotoxicosis, including the preservation of cerebellar structures.

## 5. References

- Aoyama, H., Yoshida, M. and Yamamura, Y. (1986) Acute poisoning by intentional ingestion of thallous malonate. *Human Toxicol.* 5, 389.
- Barroso-Moguel, R. and Costero, I. (1962) Argentaffin cells of the carotid body tumor. *Am. J. Path.* 41, 389.
- Barroso-Moguel, R., Rios, C., Villeda-Hernández, J., Méndez-Armenta, M. and Galván-Arzate, S. (1990) Neurotoxicity of thallium biochemical and morphological study of organic lesions. *Arch. Invest. Méd. (Méx.)* 21, 115.
- Kamerbeek, H.H., Rauws, A.G., Ten Ham, M. and Van Heijst, A.N.P. (1971) Dangerous redistribution of thallium by treatment with sodium diethyldithiocarbamate. *Act. Med. Scand.* 189, 149.
- Marmo, E., Matera, M.G., Acampora, R., Vacca, C., De Santis, D., Maione, S., Susanna, V., Chieppa, S., Guarino, V., Servodio, R., Cuparencu, B. and Rossi, F. (1987) Prenatal and postnatal metal exposure. Effect on vasomotor reactivity development of pups. *Curr. Ther. Res.* 42, 823.
- Marwaha, J., Freedman, R. and Hoffer, B. (1980) Electrophysiological changes at a central noradrenergic synapse during thallium toxicosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 56, 345.
- Moeschlin, S. (1980) Thallium poisoning. *Clin. Toxicol.* 17, 133.
- Prick, J.J.G. (1979) Thallium poisoning. In: P.J. Vinken and G.W. Bruyn (Eds), *Handbook of Clinical Neurology*, Vol. 36, North-Holland Publishing Co., Amsterdam, p. 516.
- Rios, C. and Monroy-Noyola, A. (1992) D-penicillamine and Prussian blue as antidotes against thallium intoxication in rats. *Toxicol.* 74, 69.
- Roby, D.J., Fein, A.M., Bennet, R.H., Morgan, L.S., Zatuchni, M.D. and Lippmann, M.L. (1984) Cardiopulmonary effects of acute thallium poisoning. *Chest* 83, 236.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. (1969) *Principles and Procedures of Statistics*, McGraw-Hill, New York.
- Thompson, C., Dent, J. and Saxby, P. (1988) Effects of thallium poisoning on intellectual function. *Br. J. Psychiatry* 153, 396.
- Thompson, D.F. (1981) Management of thallium poisoning. *Clin. Toxicol.* 18, 979.
- Wainwright, A.P., Kox, W.J., House, I.M., Henry, J.A., Heaton, R. and Seed, W.A. (1988) Clinical features and therapy of acute thallium poisoning. *Quart. J. Med.* 69, 939.
- Yokoyama, K. and Abe, H. (1990) Distribution of nerve conduction velocities in acute thallium poisoning. *Muscle & Nerve*. 13, 117.



# FUNDACION GLAXO WELLCOME

otorga el presente

## RECONOCIMIENTO

a

*Biol. Juana Villeda Hernández*

Por su brillante participación en el  
**"VII PREMIO NACIONAL DE INVESTIGACION 1995"**  
Con el trabajo de investigación titulado.

**La combinación d-penicilamina y azul de prusia como  
tratamiento contra la talitoxicosis. Evaluación de  
las lesiones de cerebelo, tálamo e hipocampo.**

México, D.F., Mayo 1996.

Dr. Carlos E. Pietra Santa V.  
Presidente

Enrique Concha Imaña  
Vice-presidente