

7
201
229



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EVALUACION DEL EFECTO ANTITUMORAL DEL TALIO
EN RATAS CON TUMORES DEL SISTEMA NERVIOSO
CENTRAL INDUCIDOS POR ETIL-NITROSO-UREA (ENU)”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A:

MIREYA ALCÁRAZ ZUBELDIA



MEXICO, D.F.

1998

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

260883



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: "Evaluación del efecto antitumoral del talio en ratas con tumores del Sistema Nervioso Central inducidos por Etil-Nitroso-Urea (ENU)".

realizado por Alcaraz Zubeldia Mireya

con número de cuenta 8722643-2 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Bióloga Sonia Galván Arzate *Sonia Galván Arzate*
 Propietario Doctor en Ciencias Luis Camilo Ríos Castañeda *L. Camilo Ríos Castañeda*
 Propietario Doctor en Ciencias Biomédicas Octavio Quezada García *Octavio Quezada García*
 Suplente Maestro en Ciencias Marco Antonio Martínez Avila *Marco Antonio Martínez Avila*
 Suplente Doctora en Ciencias Margarita García Garduño *Margarita García Garduño*

Consejo Departamental de Biología

[Firma manuscrita]
M. EN C. ALEJANDRO MARTINEZ MENA



DEPARTAMENTO DE BILOGIA

El presente trabajo fué llevado a cabo en el Departamento de Neuroquímica del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez", gracias a la dirección de la Biol.Sonia Galvan Arzate, la asesoría del Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda y al apoyo económico por concepto de beca del CONACyT, proyecto 0935P-M9506.

AGRADECIMIENTOS

A la Biol.Sonia Galván Arzate por su apoyo y guía en el desarrollo y consumación de esta tesis, además de haberme hecho acreedora de una formación científica y haberme regalado, durante el desarrollo de la misma, su amistad.

Al Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda por su ingenio y visión para idear esta tesis, así como por ser modelo de investigador y persona para mi y para todos sus alumnos. Con todo mi respeto, admiración y cariño, gracias.

Al Dr. Octavio Quezada García por sus agudos comentarios a esta tesis y por todas esas enseñanzas que me hacen recordarlo como uno de los más destacados profesores que he tenido.

Al M. en C. Marco Antonio Martínez Avila por su amable compañerismo y apoyo en la corrección de la presente tesis.

A la Dra. Margarita García Garduño por su invaluable apoyo en la corrección de la presente tesis.

DEDICATORIA

A mis hermanas Lety, Guille y Paty por cuidarme y hacerme sentir siempre mejor, porque son ustedes la familia que cualquiera sueña tener. Mil gracias por empujarme a ser mejor y darme todo su respeto y cariño.

A Arturo, Gerardo y Rafael por quererme y cuidarme tanto a mi y a lo que más amo.

A María Ignacia Zubeldia y Dionisio Merodio por estar siempre a mi lado en todo momento y enseñarme como amar.

A la Señora Rebeca Hernández Ramírez por ser una excelente madre sustituta, por todo su amor y complicidad, que me hacen sentir acompañada en todo momento.

A Martha Rocha Munive, no sólo la mujer más inteligente que conozco, sino también la más querida amiga que he tenido siempre, porque se que ésto es sólo una pequeña parte de todo lo que tenemos que compartir en esta vida. Te quiero mucho !

A mis amigos de la Facultad, entre ellos principalmente a María Elena Chánez, Daniel Navarro, Jorge Calderón, Daniel Santamaría y Fidel Armendáriz, porque todo el cariño que compartí con ustedes en esos años son el mejor recuerdo.

A Sergio Montes López por tu cariño en esos duros momentos, por escuchar, por todo lo compartido y lo que falta por conquistar.

A Ricardo Gómez Alejandro por su eterna disposición a compartir nuevos sueños y metas conmigo.

A Gisela Cahero, por siempre estar dispuesta a ayudarme y motivarme hacia lo que más conviene.

A mi madre, eterna ausente, siempre presente en mi mente...

“ Cansados de los eternos intentos
de atravesar la materia cruda,
elegimos otro camino y quisimos
apresurarnos hacia lo infinito.
Entramos a nosotros mismos
y creamos un nuevo mundo...”

Heinrick Steffen, 1801.

INDICE GENERAL

	pág
Indice de tablas y figuras	5
Tabla de abreviaturas	6
D) Antecedentes	
1. Características del Talio	
1.1 Panorama histórico	7
1.1.1.Principales propiedades	8
1.1.2. Usos comunes	9
1.2. Toxicidad	
1.2.1. Dosis letal del talio	11
1.2.2. Principales causas de intoxicación	14
1.2.3. Principales procesos metabólicos relacionados con la eliminación y distribución del talio	15
1.2.4. Acumulación preferencial del talio en algunos tejidos y órganos	18
1.2.5. Zonas de mayor captura de talio en el Sistema Nervioso Central (SNC) y principales efectos tóxicos	19
1.2.6. Manifestaciones clínicas de la intoxicación por talio	21
1.2.7. Medidas terapéuticas utilizadas en el tratamiento de intoxicación por talio	24

	pág
1.2.8. Antídotos mas comúnmente utilizados en el tratamiento de la taliotoxicosis	26
1.3. Relación del Tl⁺ y del K⁺ en las células animales	
1.3.1. Importancia funcional de la ATPasa Na ⁺ /K ⁺ en las membranas celulares	29
1.3.2. Acción del talio y potasio sobre la ATPasa Na ⁺ /K ⁺ de la membrana en células nerviosas normales y transformadas	30
2. Los compuestos N-nitrosos en la producción de tumores	32
2.1. Ventajas del compuesto N-Etil-N-Nitroso-Urea (ENU)	36
2.1.0. Nivel de incidencia tumoral en el modelo de ENU	38
2.1.1. Tipos tumorales más comúnmente encontrados	38
2.1.2. Afinidad hacia el S.N.C.	40
2.2. Esquema de administración del ENU	41
3. Estudios relacionados con la captura del talio por las células tumorales	42
3.1. Esquema de administración y estudios previos de actividad antitumoral del metal	43
4. Ventajas del análisis de las muestras por Espectrofotometría de Absorción Atómica	46
II) Hipótesis	47
III) Objetivo General	47
IV) Objetivo Particular	47

	pág
V) Metodología	48
VI) Análisis Estadístico	55
VII) Resultados	56
VIII) Discusión	61
IX) Conclusiones	68
X) Referencias	70

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	pág
Tabla 1. Toxicidad de las sales de talio	13
Tabla 2. Medidas terapéuticas contra el envenenamiento por talio.	24
Tabla 3. Propiedades de los antidotos contra la taliotoxicosis.	27
Figura 1. Esquema de la ATPasa Na ⁺ /K ⁺	30
Tabla 4. Incidencia tumoral del ENU	38
Tabla 5. Resultados experimentales de la administración del ENU	41
Tabla 6. Esquema de administración del tratamiento antitumoral	44
Tabla 7. Preparación de la curva de calibración	52
Tabla 8. Diluciones realizadas	53
Figura I. Gráfico de la evaluación de los niveles de talio en cerebro	57
Figura II. Gáfico de la evaluación de los niveles de talio en médula	59

TABLA DE ABREVIATURAS

Tl⁺ = Talio

K⁺ = Potasio

i.p. = intraperitoneal

p o. = per oral (oral)

i.v. = intravenosa

s.c. = subcutánea

ENU = Etil-Nitroso-Urea

mm Hg = milímetros de Mercurio

DL50 = dosis letal 50

ppm = partes por millón

ppb = partes por billón

SNC = Sistema Nervioso Central

SNP = Sistema Nervioso Periférico

SNA = Sistema Nervioso Autónomo

BHE = Barrera Hemato-Encefálica

AP= Azul de Prusia = Hexacianoferrato férrico potásico (II)

EAA = Espectrofotometría de Absorción Atómica

I.- CARACTERISTICAS DEL TALIO

1.1.1. Panorama histórico y principales propiedades.

El talio (Tl⁺) es un metal pesado. Fue descubierto por Sir William Crookes en Mayo de 1861 cuando buscaba telurio en residuos del proceso de la cámara de plomo en una planta de ácido sulfúrico, en Tilkenrode en las montañas de Harz, Alemania.

Cuando quemó una porción del depósito en una flama de gas, observó una banda espectral con líneas oscuras y brillantes. Crookes esperaba ver las bandas de telurio pero en vez de eso, centelleó una línea brillante dentro de lo examinado y rápidamente desapareció, él estaba convencido de que la línea central aislada nunca había sido observada antes y que era característica de alguna sustancia desconocida. Impresionado por el color verde de la línea espectral, llamó al nuevo elemento talio (del griego antiguo "thallos": brote joven, retoño)(Galván, 1992).

Crookes pudo obtener una pequeña cantidad del elemento en forma metálica y lo exhibió en Londres en 1862. En ese mismo año, el francés Lamy trabajando independientemente de Crookes descubrió la misma línea espectral en residuos de otra planta de ácido sulfúrico, por lo que es considerado el segundo descubridor del talio. Lamy estudió tanto las propiedades físicas como las químicas del nuevo elemento y consiguió aislar una mayor cantidad que Crookes.

El metal fue clasificado por Crookes dentro de la familia sulfúrica, pero Mendelejev lo colocó en el grupo III-A de su Tabla Periódica por sus propiedades fisicoquímicas (Galván, 1992).

1.1.1.Principales propiedades.

El Tl⁺ no es un metal raro, se encuentra naturalmente en la corteza terrestre en forma de varios minerales con porcentajes que van desde un 16% a un 60%. Entre estos minerales se cuentan:

Crookesita (Cu,Tl,Ag)₂ Se

Hutchinsonita Pbs. (Tl,Ag) ₂ S.Pbs.2As₂S₃

Lorandita (Tl₂S. AsS₃)

Vrbaíta Tl₂S₃ (As,Sb)₂ S₃ (Galván, 1992)

Se dice que en la corteza terrestre su porcentaje varía entre los 0.3 y 0.5%/g y sus concentraciones naturales en el agua dulce y salada, se estiman como menores a los 0.33 ppb (Liem et al.,1984).

El Tl⁺ natural se compone de dos isótopos estables con números de masa de 203 (29.5%) y 205 (70.5%). De los isótopos artificiales, el Tl-204 es el nucleóide sencillo más importante con una vida media de 3.56 años (Izmerov, 1982).

El Tl⁺ es un metal plateado con sombras grisáceas. El Tl⁺ puede ser uni- o trivalente, siendo el primero en su forma inorgánica, el más estable. En contraste con esto, los compuestos covalentes de Tl⁺ orgánico son estables sólo en su forma trivalente. Entre los diferentes compuestos de Tl⁺, los más comúnmente utilizados están los sulfatos, cloruros, bromuros y yoduros; así como los carbonatos, acetatos y malonato-formatos (Mulkey & Oheme,1993).

Entre sus propiedades físicas se encuentran:

Número atómico = 81

Peso atómico = 204.3833

Punto de fusión = 302.4°C

Peso específico = 11.85 a 20°C

Radio atómico = 171.0

Radio iónico Tl^+ = 150.0 (1.50 Å)

Tl^{+3} = 88.5

Electronegatividad de Pauling = 1.8

1.1.2. Usos comunes.

El Tl^+ es un elemento altamente tóxico, que ha adquirido una creciente importancia como contaminante traza. Los compuestos de Tl^+ son liberados al ambiente por varias fuentes antropogénicas, incluidas las fundidoras de cobre, plomo y zinc, minas de carbón, plantas de energía que utilizan al carbón como combustible y cementeras. También, se ha puesto en peligro la salud pública debido a la constante utilización de fertilizantes fosfatados, con altos contenidos del metal (Mulkey & Oheme, 1993).

Mientras que las cantidades de Tl^+ movilizadas por las actividades humanas están lejos de ser consideradas como un problema a gran escala, ya existen algunos reportes de accidentes localizados de contaminación ambiental (Rade et al., 1982).

Las sales de talio fueron utilizadas con fines terapéuticos para el tratamiento de la sífilis, la tuberculosis, la gonorrea y la disentería, así como con fines dermatológicos para el tratamiento de enfermedades como la tiña y la lepra hasta 1912, cuando se suspendió su uso debido a la aparición de efectos adversos. Sin saber de su toxicidad, las sales de Tl^+ (en especial el acetato de Tl^+) también fue utilizado para el tratamiento de la infección con *Tricophyton* en 1940 (Chandler y Scott, 1984).

Actualmente, es utilizado para la producción de fotorresistencias, fotoceldas de alta sensibilidad, nuevos tipos de semiconductores de materiales semejantes al vidrio con propiedades de conductancia ampliamente variable, fotoconductividad y otros. Es también utilizado en la industria en la manufactura de lentes, contadores de centelleo, joyería de imitación y en utensilios de fotografía (Ellenhorn & Barceloux, 1988).

El Tl^+ metálico en aleación con otros materiales es útil en la producción de fototriodos con sensibilidad en la región del infrarrojo, así como para alearse con compuestos de aluminio, silicio y cadmio. El formato málico de talio es ampliamente utilizado en análisis mineralógicos. Los acetatos, carbonatos y sulfatos de talio fueron utilizados como insecticidas (principalmente para la eliminación de plagas de hormigas) y raticidas desde 1920 (Chamberlain, 1958).

Como resultado de numerosos accidentes, suicidios y homicidios, su uso como plaguicida fue restringido en Estados Unidos en 1965 pero fue hasta 1973, cuando la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó evitar tal uso, y dicha prohibición fue aceptada por los gobiernos de Estados Unidos e Inglaterra (Luckit et al., 1990).

Recientemente, ha sido utilizado como herramienta médica, en su forma radioactiva, en la localización de tumores e imágenes del miocardio, así como para la evaluación de viabilidad cardíaca, gracias a las similitudes fisicoquímicas que comparte con el potasio (K⁺) (Ando A. et al., 1988; Sehweil et al., 1988). Sin embargo, su toxicidad ha sido reportada como resultado del uso del cloruro de talio como medicina homeopática (Ellenhorn & Barceloux, 1988).

Se ha sugerido el uso del Tl⁺, en el área de investigación básica, como una prueba del potencial de membrana, debido a sus propiedades electroforéticas, lo que podría tener relevancia en estudios teóricos acerca del mecanismo de fosforilación oxidativa (Skulskii et al., 1978).

Ha sido utilizado como una prueba del proceso de activación de la aldehído-deshidrogenasa en levaduras, por efecto de cationes monovalentes (Bostian y Bets, 1975). Se ha comprobado su capacidad para reemplazar al K⁺ en la activación de las enzimas K⁺-dependientes, tales como la piruvato cinasa (Melnick et al., 1976).

II.- TOXICIDAD.

1.2.1. Dosis letal del Tl⁺.

No existe coincidencia entre los reportes existentes, pero algunos autores consideran que la dosis mínima letal de Tl⁺ en humanos varía en un rango de 8-12 mg/kg y 8-15 mg/kg para adultos intoxicados con sulfato de talio (Montoya et al., 1985; Aoyama H. et al., 1986) mientras otros opinan que dicha dosis oscila entre los 10-35 mg/kg para el mismo compuesto (Smith y Doherty, 1964).

En los casos de envenenamiento agudo, las muertes sobrevienen antes de 8-10 días, siendo éstas mas frecuentes en lapsos de 10-12 días (Moeschlin, 1980).

Se han reportado casos en los que la ingestión del metal sobrepasa hasta 8 veces la dosis letal, estimada en el rango de 114 mg/kg, presentándose como la dosis más alta reportada hasta 1986 (Aoyama H. et al., 1986).

Autores consideran que el promedio de la dosis letal para un adulto es de 1g de la sal soluble de talio. Observándose sobrevivencia después de ingestiones de 1.3 g por adultos sobreviniendo la muerte como resultado de la ingestión de 3.2g del metal (Ellenhorn y Barceloux, 1988).

En investigaciones con animales ha sido comprobado que las especies mas sensibles a las sales de Tl^+ son los ratones y las ratas albinas; y que los cuyos y ratas, se presentan como los más resistentes. El valor de la Dosis Letal del 50% (DL50) (en términos del ion Tl^+) para la mayor parte de los compuestos, se encuentra en los límites de los 20-30 mg/kg (Izmerov, 1982). Algunos autores presentan una DL50 para hámsters de 40 mg Tl^+ /kg en su forma de malonato de talio (Aoyama H., 1989).

En 1992, Ríos y Monroy establecieron una dosis letal 50 (DL50) para ratas Wistar adultas empleando acetato de talio, cuyo valor alcanzó los 32 mg/kg.

En la siguiente tabla se concentran valores de DL50 y D100 para varios compuestos de talio en diferentes especies animales.

TABLA 1. TOXICIDAD DE LAS SALES DE TALIO.

COMPUESTO	ANIMAL	VIA DE ADM.	DOSIS LETAL	DOSIS (mg/kg)
ACETATOS	rata	i.p..	DL50	^a 32
		p.o	DL50	32
	conejo	i.v.	DLlo	20
		i.p.	DLlo	13
	cuyo	i.p.	DLlo	7
		p.o.	DLlo	12
OXIDOS	rata	p.o.	DLlo	20
		i.p.	DL50	72
	conejo	i.v.	DLlo	39
		i.p.	DLlo	60
	cuyo	i.p.	DLlo	30
		p.o.	DLlo	5
NITRATOS	perro	p.o.	DLlo	30
	rata	s.c.	DLlo	20
	ratón	p.o.	DL50	32.5
SULFATOS	perro	p.o.	DLlo	45
	rata	p.o.	DL50	15.8
	ratón	p.o.	DL50	29
	humanos	p.o.	DLlo	8

NOTA: DLlo es la dosis más baja capaz de producir la muerte después de 14 días de observación (Achenbach et al., 1980; ^a Ríos y Monroy-Noyola, 1992; y Mulkey y Oheme, 1993) Ver tabla de abreviaturas.

Dependiendo de la sal con la que el Tl^+ se encuentra asociado, la especie animal intoxicada, la dosis aplicada, y la vía de administración del compuesto, será el efecto producido en el organismo.

Esto se ve reflejado en los estudios realizados por Aoyama (1989), donde se compara la velocidad de distribución del sulfato con la estimada para el malonato de talio, siendo este último el que logró una distribución a mayor velocidad. Esto ocurre debido a que el malonato de talio se descompone en forma de iones Tl^+ , disolviéndose con mayor facilidad en agua que el sulfato de talio. El autor concluye que el malonato de talio, un compuesto orgánico del Tl^+ , demuestra un mayor porcentaje de eliminación, pero similar toxicidad y patrón de distribución al compararlo con el sulfato de talio, un compuesto inorgánico del mismo metal (Aoyama et al., 1988).

Para efecto de comparaciones con otros metales pesados, Zitko (1975), sitúa sólo al metilmercurio con una mayor toxicidad que el Tl^+ . Por otro lado, Mulkey hace referencia a Lucky y Venugopal (1978), quienes lo clasifican como el catión acumulativo más tóxico (Mulkey y Oheme, 1993).

1.2.2. Principales causas de intoxicación.

Gracias a su toxicidad, y al hecho de que el Tl^+ carece de color, olor y sabor, es frecuente que se produzcan intoxicaciones severas debido a su incorporación al organismo (Luckit et al., 1990).

La intoxicación por Tl^+ en los animales y el hombre, aparece después de su introducción en el organismo por la vía cutánea (debido a su capacidad de pasar a través de la piel), inhalación o ingestión (por contaminación de la comida o de las manos), siendo esta última vía la que origina mayor número de casos de intoxicación por dicho metal. La intoxicación por Tl^+ puede dar lugar a

manifestaciones agudas, subagudas o crónicas de acuerdo con el tipo de exposición (Moeschlin, 1980; Rossi et al., 1987).

Debido al contacto frecuente de la población general con productos que lo contienen, se han suscitado diversos tipos de intoxicación con Tl⁺; accidentales (ingestión accidental de cebos para roedores y la utilización de insecticidas), ocupacional en diversas industrias (farmacéuticas, de vidrio y colorantes) (Andersen , 1984) e intencionales, con fines suicidas (Montoya et al., 1979; Montoya et al., 1985; Aoyama, 1986) u homicidas (Cavanagh et al., 1974; Meggs, et al., 1994).

1.2.3. Principales procesos metabólicos relacionados con la eliminación y distribución del Tl⁺.

El Tl⁺ es un ión extremadamente tóxico que se acumula con gran facilidad en los tejidos y es capaz de atravesar tanto la Barrera Hemato-Encefálica (BHE) como la placenta, en cuyo caso pueden producirse alteraciones como alopecia, así como anomalías en las uñas del feto expuesto en el último trimestre de la gestación (Raws, 1974; Ellenhorn & Barceloux, 1988). Es eliminado por la orina, la bilis, la saliva, las heces fecales, la leche materna y las lágrimas (Marmo et al., 1987). Especialmente, las sales solubles de talio son rápidamente absorbidas y ampliamente distribuidas a través del cuerpo provocando daño tisular. El envenenamiento por talio es una de las más complejas y serias toxicidades conocidas por el hombre. El talio se acumula en el líquido intracelular, combinándose con aminoácidos y depositándose en los huesos como fosfato (Ellenhorn & Barceloux, 1988). Este metal desaparece rápidamente del fluido sanguíneo para distribuirse entre los órganos, para concentrarse principalmente en riñones y glándulas salivales. Como

consecuencia de esta distribución, el talio puede depositarse también en las células de los folículos pilosos, principal causa de alopecia en personas intoxicadas con dicho metal (Izmerov, 1982).

Debido a su gran espectro de distribución y su pequeña concentración libre en el plasma, la excreción renal del Tl^+ es lenta y puede ser detectada meses después de la exposición en personas sin tratamiento (Izmerov, 1982; Mulkey y Oheme, 1993).

Se cree que en el mecanismo de la toxicidad del Tl^+ pueden estar involucrados los siguientes eventos:

- 1) Interferencia con los procesos vitales K^+ / dependientes.
- 2) Sustitución por K^+ en la $ATPasa Na^+/K^+$ activada.
- 3) Alta afinidad por los grupos sulfhidrilos.

Sin embargo, el mecanismo de su toxicidad a nivel molecular, no ha sido establecido.

1.2.3.1. Efectos tóxicos observados como consecuencia de la intoxicación por Tl^+ .

Las necropsias de sujetos envenenados por talio, han revelado hiperemia y hemorragias puntuales en la mucosa gástrica y de la parte superior del intestino, infiltraciones grasas de las células del hígado y riñones, pequeñas hemorragias medulares y degeneración cortical de las glándulas adrenales. También el Tl^+ afecta las bandas A del tejido muscular (Reed et al., 1963; Achenbach et al., 1980).

En relación con las alteraciones del Sistema Hematopoyético se ha observado linfopenia y neutrofilia moderada en adición a la trombocitopenia, cuya aparición ha sido relacionada con un daño directo en los megacariocitos. Ha sido comprobada la alta toxicidad del Tl^+ en la médula ósea, lo que trae como

consecuencia la disminución del número de plaquetas, el cual es recuperado conforme disminuye el contenido de dicho metal. También ha sido reportada la hipoplasia de la médula ósea, en un caso de intoxicación crónica durante siete meses. Alteraciones hemáticas, como la anemia, leucocitosis y eosinofilia también se han reportado (Luckit et al., 1990).

Se ha observado hinchamiento y varios grados de cromatolisis en las neuronas, especialmente en las del tracto piramidal, tercer núcleo, *substantia nigra* y células piramidales del *globus pallidus*, así como del hipocampo. En los casos de intoxicación crónica se ha observado edema notable de las membranas aracnoidea y piamadre, así como alteraciones en las células ganglionares de las astas ventrales y dorsales de la médula espinal. Evidencias electrocardiográficas demuestran también, daño al miocardio. Los daños tóxicos al riñón, han sido indicados por albuminuria y hematuria, de cualquier forma, la función renal no se encuentra muy alterada (Reed et al., 1963; Lohmann et al., 1989).

Thyresson, ha demostrado un efecto significativo sobre la respiración aeróbica en varios tejidos de la rata, por el acetato de talio *in vitro*. También fue evidente una inhibición de la oxidación de cada metabolito en el Ciclo de Krebs, exceptuando el ácido succínico (Smith y Doherty, 1964).

Estudios experimentales sugieren una alta sensibilidad de las neuronas y sus axones a la acción del Tl⁺. Su acumulación en las mitocondrias axonales, provoca su destrucción. Asimismo, se han observado efectos en la retracción de la mielina de los nodos de Ranvier (Montoya et al., 1979; Ellenhorn & Barceloux, 1988).

1.2.4. Acumulación preferencial del talio en algunos tejidos y órganos.

En estudios previos, los órganos que han demostrado mayor captura de Tl⁺ en ratas son: Riñones, testículos, hígado y cerebro en orden decreciente; alcanzando niveles tóxicos con consecuencias neurológicas importantes. Hay quienes enlistan las diferencias en concentración del Tl⁺ en órganos de la siguiente manera: Riñones > testículos > hígado > bazo > próstata > cerebro > piel; anexando las concentraciones evaluadas para el bazo y la próstata (Aoyama, 1988).

Se concluye, que los órganos que acumulan el Tl⁺ son el riñón y los testículos, lo que sugiere la nefrotoxicidad del metal. Algunos autores, han encontrado que el Tl⁺ tiene una acumulación mayor del metal en corazón que en riñones (Aoyama, 1988). De acuerdo a la concentración de Tl⁺ con respecto al tiempo Achenbach sugiere que el intercambio de K⁺/Tl⁺ en el músculo podría ser mas rápido que el período de excreción hepatorenal (Achenbach et al., 1980). Esto último es apoyado por Cavanagh et al.(1974) quienes observaron una concentración del metal de 20 µg/g en riñón, seguido de corazón y cerebro, este último caso con las concentraciones más pequeñas.

Achenbach et al.(1980), reportan la existencia de un mecanismo de captura diferente en el caso del tejido cerebral, observando en las primeras 15 horas después de la administración de Tl⁺, una cantidad menor del metal a la evaluada para los diferentes órganos abdominales.

Por último, Ríos y colaboradores (1989), realizaron estudios para evaluar la distribución del Tl⁺ en regiones del cerebro y órganos de la rata, observando una preferencia por la captura del metal por las diferentes regiones cerebrales, explicando que estas concentraciones, se ven "enmascaradas" en el momento de su evaluación en el cerebro completo. Dichos resultados (señalados en el

siguiente inciso) permiten asegurar que el Tl⁺ es capturado preferentemente por algunas regiones cerebrales antes que por el tejido muscular, a diferencia de lo propuesto en estudios anteriormente citados (Achenbach et al. 1980; Ríos et al., 1989).

Sin embargo, Aoyama presenta resultados que demuestran cierta preferencia del Tl⁺ por los músculos y el corazón más que por los tejidos con un alto contenido lipídico como el cerebro en un estudio realizado en humanos. En este último estudio sin embargo, no se midieron las concentraciones de talio en las diferentes regiones del cerebro (Aoyama et al., 1986).

1.2.5. Regiones de mayor captura de talio en el S.N.C. y principales efectos tóxicos.

En 1989 Ríos y colaboradores, demostraron que la distribución del Tl⁺ en el cerebro es diferente para cada región. Evaluaron el contenido de Tl⁺ en distintas regiones del cerebro 24 horas después de la administración de 16 mg/kg de Tl₂SO₄, encontrando como la región con mayor concentración del metal al hipotálamo, seguido del mesencéfalo, hipocampo, tálamo, puente, cerebelo, cuerpo estriado y con la menor concentración a la corteza.

Los autores señalan que la distribución diferencial del Tl⁺ en el cerebro, se puede explicar por varios mecanismos. Uno de ellos, podría ser un transporte heterogéneo del Tl⁺ a través de la BHE, produciendo diferencias regionales en la entrada al parénquima cerebral. La otra, es que existieran diferencias neuronales o gliales para la captura o retención entre las diferentes regiones cerebrales (Ríos et al., 1989).

La corteza cerebral, como se mencionó anteriormente, presenta la menor concentración o retención de Tl⁺ entre las diferentes regiones del cerebro.

Asímismo, ésta representa la mayor proporción del tejido cerebral, por lo que "enmascara" los resultados de otras regiones de pequeñas proporciones como el hipotálamo que, en la lista dada por Ríos et al. en 1989, se presenta en primer sitio en cuanto a los niveles de Tl⁺ evaluados.

La relevancia de dichos descubrimientos radica en dar explicación al gran número y gravedad de los efectos neuropatológicos encontrados en las personas intoxicadas por dicho metal (Ríos et al., 1989).

Es importante mencionar que en los experimentos realizados por Galván y Ríos en 1994, se observó que después de 24 horas de administrada la solución de acetato de talio en ratas en desarrollo, la corteza tuvo niveles menores de Tl⁺ a los reportados anteriormente, a diferencia de lo observado en el hipotálamo, en el que la concentración se mantuvo en el mismo nivel. Estos estudios arrojan evidencias de la importancia de la BHE en la entrada y distribución del Tl⁺ en el cerebro de ratas con edades que varían desde las 24 horas hasta los 20 días, y los efectos de distribución del metal en el tejido nervioso (Galván, 1992).

Otros autores, al evaluar los niveles de Tl⁺ en relación al tiempo después de una administración oral, observaron que posterior a la administración del metal y permaneciendo casi constante durante las primeras 12 horas, la curva comienza a tener un crecimiento que demuestra una mayor concentración del metal con respecto al tiempo alcanzando su máximo a las 25 horas posteriores a la ingestión de la dosis del metal, lo que coincide con lo encontrado en el caso de Ríos y colaboradores en 1989, en donde proponen que el pico de acción del metal se alcanza al transcurso de las primeras 24 horas posteriores a la intoxicación.

1.2.6. Manifestaciones clínicas de la intoxicación por talio.

Los signos y síntomas de la taliotoxicosis, dependen primordialmente de la edad del paciente, dosis captada de la sal de Tl^+ y el tiempo de exposición (aguda, subaguda, crónica, etc.) (Smith y Doherty, 1964).

Envenenamiento agudo ; considerado como aquél que se produce por la administración de cantidades elevadas del metal en una o varias exposiciones, en un período de 24 horas o menor, produciendo un efecto nocivo de inmediato (De Fernícola & Jauge, 1985):

Los primeros síntomas que acompañan a la taliotoxicosis aguda aparecen en uno a diez días, e incluyen dolores y parestesia de las extremidades, debilidad motora, ptosis bilateral, ataxia, alopecia, fiebre, conjuntivitis, dolor abdominal, desórdenes gastrointestinales, náusea y vómito. El progreso del envenenamiento está indicado por la aparición de alteraciones del SNC y SNP, tales como letargia, lenguaje confuso, temblores, movimientos coreiformes, convulsiones, atetosis, *mioclonus* y cianosis (Rossi et al., 1987).

También se ha observado anuria, con daños renales y alteraciones de la piel. Es común la aparición de síntomas cardíacos tales como taquicardia, pulso irregular, hipotensión y dolor semejante a angina de pecho, pudiéndose llegar al coma. Puede provocar polineuritis, pérdida del apetito, diarrea con sangre y disestesia. Signos de edema pulmonar y bronconeumonía pueden preceder a la muerte por efecto de falla respiratoria (Reed et al., 1963; Rossi et al., 1987; Ríos y Monroy-Noyola, 1992), algunos autores han reportado una vida media del talio de 1.9 días para este tipo de intoxicación (Ellenhorn & Barceloux, 1988).

Envenenamiento subagudo ; se considera como aquel que necesita de exposiciones frecuentes o repetidas durante un período de varios días o semanas, antes de que aparezcan los efectos (De Fernícola & Jauge, 1985):

Las dosis subagudas provocan dolores muy fuertes en las extremidades inferiores, parestesias de manos y pies, ataxia y alopecia (Favari y Mourelle, 1985).

Se presentan algunos desórdenes psiquiátricos como psicosis, depresiones, agresividad y alucinaciones en algunos pacientes intoxicados con Tl^+ (Cavanagh et al., 1974).

Prick ha descrito algunos descubrimientos histopatológicos en estos pacientes, enfatizando que la parte emotivo-visceral del cerebro se encuentra más dañada que el telencéfalo (Prick, 1979).

Envenenamiento crónico ; considerado como aquel que se produce por la administración de pequeñas cantidades del metal durante períodos largos, pudiendo aparecer efectos nocivos inmediatamente después de cada aplicación o crónicos (De Fernícola & Jauge, 1985):

Si la absorción de Tl^+ ocurre en un período prolongado, las manifestaciones más tempranas de envenenamiento son alopecia, cambios atróficos de la piel y ocasionalmente salivación y línea azul en las encías. Si la absorción continúa, pueden aparecer lesiones renales y cambios funcionales del Sistema Endocrino (amenorrea y aspermia), junto con los síntomas y signos observados en el envenenamiento agudo (Repetto, 1981).

Böringer, reporta patología del nervio óptico en un estudio de intoxicación crónica con talio en todos los pacientes (Smith y Doherty, 1964).

En resumen, las principales evidencias sintomatológicas para el diagnóstico de la intoxicación por talio son:

1.2.7. Medidas terapéuticas utilizadas en el tratamiento de intoxicaciones por talio.

En 1958 Chamberlain, recomienda como terapia contra la intoxicación por Tl⁺, los siguientes pasos:

TABLA 2 . MEDIDAS TERAPEUTICAS CONTRA EL ENVENENAMIENTO POR TALIO.

INGESTION AGUDA S/SINTOMAS	APARICION DE SINTOMAS DE TALIOTOXICOSIS CON HISTORIA DE INGESTION O DETECCION EN ORINA
1.Lavado gástrico.	1.Lavado gástrico, en caso de existir reminiscencias en el estómago.
2. Utilización de carbón activo (0.5g/kg, vía oral) por 5 días.	2.Adminstración de KCl (3-5g, vía oral) diariamente.
3. Administración de KCl (3-5g, vía oral) por 5-10 días.	3.Administración de Ditzona (10 mg/kg, vía oral) 2 veces al día por 5 días. Puede prolongarse dependiendo del estado clínico.
4. Monitoreo de niveles de Tl ⁺ en orina	
5. Observación de alopecia y/o síntomas neurológicos por lo menos en la dos semanas siguientes.	(Con modificaciones de Repetto, 1981)

El KCl a una dosis de 5 a 25 g al día por vía oral, puede ser útil para aumentar la excreción de Tl^{+} , pero aumenta la cifra sérica del mismo temporalmente y por lo tanto, es arriesgado (Montoya et al., 1985).

Por otro lado, el azul de prusia (hexacianoferrato férrico potásico [II]) (AP), es más efectivo que el carbón activado para atrapar el Tl^{+} excretado por el intestino, evitando la absorción. La dosis de AP recomendada es de 10 g, 2 veces al día, por sonda duodenal, o de 250mg/Kg dividida en 4 administraciones orales. Un catártico suave es recomendado para ser añadido con cada dosis (se recomiendan 50 ml de sorbitol al 15%). Este compuesto no es disponible comercialmente para su uso terapéutico desde que no es aprobado por la FDA en Estados Unidos, aunque en laboratorios de patología se utiliza como herramienta contra esa intoxicación (Ellenhorn & Barceloux, 1988).

Además, pueden ser utilizadas algunas medidas generales, entre las que destacan:

a. Se puede usar con precaución tiosulfato de sodio, 10 ml de solución al 10% (V) para ayudar a la movilización y excreción del Tl^{+} , pero puede incrementar los signos de toxicidad.

b. Mantener la presión arterial con la administración anterior anexando la administración de glucosa al 5% en solución salina.

c. Mantener un calor moderado y una ingestión de líquidos y nutrición adecuadas.

d. Mantener un volumen urinario de 1,000 ml o más al día. Si aparece insuficiencia renal, administrar sólo la cantidad suficiente de líquidos para reemplazar las pérdidas (Repetto, 1981).

En los casos de envenenamiento crónico se recomienda evitar nuevas exposiciones y el esquema ya descrito para la intoxicación aguda (Repetto, 1981).

1.2.8. Antídotos más comúnmente utilizados en el tratamiento de la talioxicosis.

Para el tratamiento de la intoxicación por Tl^+ , se han utilizado también otros medicamentos como antídotos, que en algunas ocasiones llegan a promover la remoción del Tl^+ de los tejidos redistribuyéndolo para su posterior concentración en el cerebro, causando o incrementando de esta manera el daño neurológico.

En el siguiente listado, se anotan los que se han empleado con mayor frecuencia, así como sus propiedades:

TABLA 3. PROPIEDADES DE LOS ANTIDOTOS CONTRA LA TALIO TOXICOSIS.

MEDICAMENTO	OBSERVACIONES
K+	Redistribuye el Tl ⁺ e incrementa su concentración aumentando el daño neuronal.
Ditiocarbamato	Su DL50 es similar a la del Tl ⁺ , también causa redistribución en el cerebro.**
Ditizona	Aumenta la gravedad de los síntomas sin incrementar la excreción urinaria del metal.
AP	Utilizado para el tratamiento de la ingestión aguda. Atrapa el Tl ⁺ en el intestino evitando su absorción. Se considera el antídoto de elección.
BAL, EDTA, Tiosulfato, Yoduro de Sodio	Poco eficaces, diversos efectos secundarios. No promueven una excreción importante del metal. (Montoya et al., 1985; Paulson y Vergara, 1972; **Kamerbeek, 1972)

Kamerbeek señala que el tratamiento con Azul de Prusia (PB) debe continuarse mientras la excreción urinaria de talio no exceda los 0.5 mg/ 24 h. Después, el monitoreo de las concentraciones de talio en los fluidos corporales deberá ser registrado para el mejor manejo terapéutico del paciente (Kamerbeek et al., 1972).

En 1979, fue demostrada la utilidad de la D-penicilamina para el tratamiento de esta intoxicación. Este agente quelante contiene azufre en uno de sus ligantes, por lo cual se sabe que el Tl⁺ tiene una afinidad definida y con el que

se supone, se une en forma covalente para dar lugar a un complejo anular estable y polar que se elimina por la orina, sin que existan pruebas de redistribución del metal en el SNC. Montoya (1985), informa del caso de tres pacientes que se restablecieron con dicho tratamiento. En estudios previos (1979), reportó la remisión de los síntomas en personas intoxicadas con el metal, después de un tratamiento con D-penicilamina, así como la ausencia de efectos indeseables atribuibles al medicamento o a la liberación del Tl^+ de los tejidos demostrando la eliminación urinaria del metal; a diferencia de lo reportado por Smith y Doherty, para los que la penicilamina no trajo como resultado un incremento en su excreción urinaria (Smith y Doherty, 1964; Montoya et al., 1979 ; Montoya et al., 1985).

En 1992, Ríos y Monroy intoxicaron con acetato de Tl^+ a dosis de 20, 30, 40, 50 y 70 mg/kg por vía i.p. a ratas de la cepa Wistar, y utilizaron como antídotos el tratamiento con AP y D-Penicilamina solos o en combinación, obteniendo después de 4 días del tratamiento con PB, un aumento en la sobrevivencia de los animales intoxicados con el metal. También se observó una remoción significativa del Tl^+ depositado, sin efectos de redistribución peligrosos.

En el caso de la D-Penicilamina administrada sola se produjo una redistribución, lo que creen los autores puede ser un factor de potenciación de la mortalidad provocada por Tl^+ en las ratas con dicho tratamiento. No observaron una redistribución significativa del Tl^+ cuando se aplicaron en conjunto ambos tratamientos. Lo que explican como una disminución en la acumulación de Tl^+ disponible después de la acelerada excreción inducida por el PB (Ríos y Monroy-Noyola, 1992).

1.3. Relación del Na^+ y K^+ en las células animales.

1.3.1. Importancia funcional de la ATPasa Na^+/K^+ en las membranas celulares.

La membrana plasmática de prácticamente todas las células animales contiene una bomba de Na^+/K^+ que funciona como un transporte de intercambio, bombeando activamente Na^+ hacia el exterior de la célula y K^+ hacia el interior en contra de sus gradientes de concentración (y, en el caso del Na^+ , también en contra de un gradiente eléctrico). Los gradientes de Na^+ y K^+ , mantenidos por la bomba de Na^+/K^+ , son los responsables no sólo del potencial de membrana de la célula sino también del control del volumen celular y del transporte activo de azúcares y aminoácidos (Alberts et al., 1985).

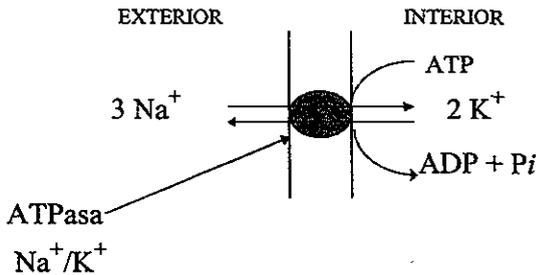
En 1957, se descubrió que una enzima que hidroliza el ATP a ADP y fosfato, necesita Na^+ y K^+ para su actividad óptima. Un dato que relacionó esta ATPasa de Na^+/K^+ con la bomba de Na^+/K^+ fue el descubrimiento de un inhibidor de la bomba, la **ouabaína**, que también inhibe a la ATPasa.

Tales hallazgos demostraron que :

- 1) El transporte de Na^+ y K^+ esta estrechamente acoplado a la hidrólisis del ATP, de tal modo que uno no puede producirse sin la otra; 2) el transporte iónico y la hidrólisis del ATP sólo pueden ocurrir cuando existen Na^+ y ATP dentro de la célula, y K^+ en el exterior; 3) la ouabaína tiene únicamente efectos inhibidores cuando se encuentra fuera de la célula donde compite para el sitio de unión del K^+ ; y 4) por cada molécula de ATP hidrolizada, se bombean 3 Na^+ hacia el exterior y 2 K^+ hacia el interior. (Figura 1)(Alberts et al., 1985).

Figura 1. Mecanismo de acción de la ATPasa Na⁺/K⁺

Membrana Plasmática



También es importante mencionar que la ATPasa Na⁺/K⁺ posee dos subunidades α y dos subunidades β , extendiéndose en el espesor de la membrana plasmática y experimentando cambios de conformación durante la el transporte iónico. En el riñón, que debe expulsar el exceso de Na⁺ a la orina y conservar el K⁺ en la sangre, se emplean en el transporte de Na⁺/K⁺ casi dos tercios del ATP producido en la respiración (Lehninger, 1981).

1.3.2. Acción del talio y potasio sobre la ATPasa Na⁺/K⁺ de la membrana en células nerviosas normales y transformadas.

Los iones Tl⁺, son considerablemente interesantes por las relaciones que guardan con los iones K⁺. Químicamente los cloruros de ambas sales interactúan para conformar cristales mixtos, el Tl⁺ puede reemplazar al K⁺ en un gran número de minerales y sus radios iónicos, son muy similares (Tl⁺ 1.49 Å; K⁺ 1.33 Å). Melnick (1976) hace referencia a los estudios realizados por

Mullins y Moore (1960), quienes descubrieron que los iones Tl^+ entran al músculo despolarizando las membranas.

Britten y Blank en 1968, demostraron que los iones de Tl^+ sustituyen a los iones K^+ en la ATPasa-(Na^+/K^+) activada, y que la **afinidad del talio es 10 veces mayor que el K^+ por el sitio de unión del K^+** , al hacer estudios con células de hígado de conejos.

Como un análogo del K^+ , el Tl^+ activa la bomba ATPasa (Na^+/K^+), hecho que se comprobó gracias a Britten y Blank en 1968, en la activación de la ATPasa del riñón de conejos.

El Tl^+ puede reemplazar efectivamente al K^+ en la activación de enzimas K^+ - dependientes, tales como la piruvato cinasa y las ya mencionadas ATPasas Na^+/K^+ (Meinick et al., 1976).

La captura celular del Tl^+ se inhibe por ouabaína y floruro de sodio, que bloquean la bomba. Es en 1968, que se abandona la idea de la existencia de dos bombas para la entrada del Tl^+ , una de las cuales se creía era la ATPasa (Na^+/K^+) y la otra, una ATPasa (Na^+/Tl^+)-activada, siendo que se trata de la misma (Sehweil et al., 1989).

El Tl^+ es altamente polarizable fuera de celdas electrónicas y rápidamente forma complejos con agua. La membrana es casi igual de permeable para el Tl^+ que para el K^+ , aunque se sabe que el Tl^+ es liberado más lentamente por la célula (Britten y Blank, 1968; Mulkey y Oheme, 1993).

Las similitudes entre los radios iónicos de los iones anteriormente mencionados, se han sugerido como la capacidad esencial que determina su penetración pasiva a través las membranas (Sehweil et al., 1989).

También se ha demostrado que el Tl^+ lleva a cabo un papel importante en la desfosforilación de los fosfointermediarios de la ATPasa Na^+/K^+ (Jensen y Norby, 1988).

En 1969, Charles E. Inturrisi observó una activación tanto en la acetilfosfatasa como la p-nitrofenilfosfatasa de los microsomas del ganado vacuno por el talio.

La afinidad del Tl^+ es, según el autor, aproximadamente 9-10 veces mayor que la encontrada para el K^+ , lo que coincide con lo evaluado por Britten en 1968. Una comparación de la activación de la acetilfosfatasa por efecto del Tl^+ y K^+ , muestra que en concentraciones de 0.1 a 3.0 mM, el Tl^+ producía casi la misma curva de activación como 1 a 30 mM de K^+ (Inturrisi, 1969).

2. Modelos experimentales para la inducción de tumores en el S.N.C.

La causa de los tumores neurales en el hombre no es aún conocida; se han considerado como factores etiológicos: desarrollo anormal, factores genéticos, aberraciones cromosómicas, traumas, virus y disturbios inmunológicos, pero no ha sido posible aún llegar a una conclusión definitiva. Sus orígenes y desarrollo son pobremente entendidos debido a la incapacidad de estudiar estados tempranos del desarrollo del tumor, y por carecer hasta hace poco tiempo de un sistema experimental adecuado (Lantos, 1980).

La utilización de los diferentes tipos de carcinógenos experimentales, obedece a la necesidad del ser humano de controlar y conocer las causas de la producción de dichos desórdenes celulares. Algunos de los métodos utilizados para la producción de tumores en el S.N.C. han sido: estimulación de la producción de neoplasmas gracias a efectos mecánicos como fueron la introducción de ceras en 1926 y cápsulas con agar; introducción de semillas dentro del espacio epidural o dentro del cerebro (Lantos, 1980).

Algunos métodos consistieron en el uso de geles higroscópicos sintéticos como el Sephadex G-200. Así mismo, otros autores (desde 1940 hasta 1957) inyectaron parafina líquida dentro de la sustancia blanca del cerebro de un gato. El desarrollo de diversas técnicas experimentales, consistieron en trasplantes de tejido neoplásico a otros individuos, inducción gracias a la administración de virus y por último, la inducción de tumores por efecto de la administración de sustancias químicas. Dichas sustancias, pueden ser administradas por medio de comprimidos que se alojan en el cerebro o administradas sistémicamente (Lantos, 1980).

Dentro de los carcinógenos químicos más utilizados se encuentran los hidrocarburos policíclicos aromáticos, los cuales fueron los carcinógenos de elección en la inducción de neoplasmas neurogénicos por sustancias químicas antes de la introducción de los compuestos nitrosos en la neuropatología experimental. El tipo histológico de los tumores así producidos era determinado por el sitio anatómico del implante del carcinógeno. El implante de los hidrocarburos en los ventrículos cerebrales producía ependimomas en la sustancia blanca subcortical del lóbulo parietal; glioblastomas en la sustancia blanca del lóbulo frontal o del occipital; oligodendrocitomas en el cerebelo; meduloblastomas de la médula espinal; y espongiblastomas polares en el puente o cuerpo calloso. Los hidrocarburos policíclicos no se absorben por la circulación, de ahí que tengan que implantarse en el órgano blanco. Presentan dos desventajas: los tumores sólo se desarrollan en el lugar del implante y la sustancia implantada causa inflamación crónica, lo que puede ensombrecer la proliferación de células neoplásicas.

Varios agentes químicos, incluidos el 2-acetil-aminofluoreno, el subacetato de plomo, el estiril 430 (un derivado de la quinolina), dietas ricas en lípidos y los alcaloides, y la pirroimidina, tienen efectos carcinogénicos en el Sistema

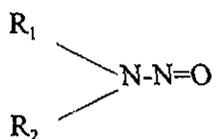
Nervioso pero la incidencia de tumores es por lo general, desilusionadoramente baja. Los hidrazo, azo y azoxialcanos y triazanos, aunque inducen una alta incidencia de tumores no han sido tan ampliamente usados como los compuestos nitrosos (Lantos, 1980).

2.0. Los compuestos N-nitrosos en la producción de tumores.

La toxicidad de nitratos y nitritos, tanto para los animales como para los seres humanos, se conoce desde finales del siglo pasado. Ya en 1895, Mayo descubrió intoxicaciones en ganado debidas a los nitratos y Comly en 1945, identificó la intoxicación de lactantes por esta misma sal cuando se encontraba en concentraciones elevadas en el agua que esos lactantes consumían (Loera, 1985).

En cuanto a las N-nitrosaminas, fueron descubiertas en 1863 cuando se logró unir el nitrógeno de una amina al nitrógeno de un radical nitroso. Actualmente existe un gran número de estudios que relacionan a la gran mayoría de los compuestos N-nitroso con procesos de mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis.

Los compuestos N-nitroso tienen la siguiente estructura general:

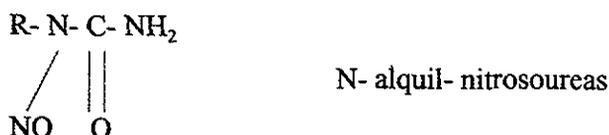


se pueden agrupar en dos clases con distintas propiedades químicas:

- a) Nitrosaminas, en las cuales R_1 y R_2 son grupos alquilo o arilo. En general, estos compuestos son estables y solo se descomponen lentamente por acción de la luz o en soluciones acuosas ácidas. Además, son susceptibles a la

oxidación, alquilación, condensación y otras reacciones en presencia de los reactivos adecuados.

b) Nitrosamidas, en las cuales R_1 es un grupo alquilo o arilo y R_2 es un grupo acilo. Por ejemplo:



Fuentes Naturales

Hasta la fecha no se conocen estudios sistemáticos que demuestren la presencia de compuestos N- nitroso originados de manera natural. Sin embargo, algunos parecen indicar que estos compuestos están presentes en ciertos microorganismos (Loera, 1985).

Fuentes Antropogénicas

Se considera que no existe la adición intencional de estos compuestos a los alimentos y que su utilización en los procesos industriales es muy poco importante; sin embargo, estos productos se utilizan como materias primas en la fabricación de colorantes, aceites lubricantes, explosivos, insecticidas y fungicidas; se emplean además como aceleradores y antioxidantes orgánicos, etc. (Loera, 1985).

La fabricación de estos productos da lugar a la exposición de los trabajadores a compuestos N- nitroso y a la contaminación de los cuerpos acuáticos por los efluentes industriales (Loera, 1985).

En cuanto a los efectos mediatos, se ha demostrado que varias especies de animales incluyendo mamíferos, aves, peces y anfibios son susceptibles al efecto carcinogénico de los compuestos N- nitroso.

En la actualidad se han probado experimentalmente 80 nitrosaminas, 64 de las cuales resultaron ser carcinogénicas; en cuanto a las nitrosamidas, de las 23 que se han estudiado, prácticamente todas han presentado el mismo efecto. Cabe mencionar que muchas de estas sustancias químicas produjeron cáncer por administración de una sola dosis.

Estos carcinógenos presentan una elevada especificidad de órganos; las nitrosaminas producen un efecto carcinogénico en el hígado, el esófago, el sistema respiratorio, y el riñón, en tanto que las nitrosamidas afectan a los sistemas nervioso periférico y central y a los órganos del sistema gastrointestinal (Loera, 1985).

2.1. Ventajas del compuesto N-Etil-N-Nitroso-Urea (ENU) para la producción de tumores en el SNC.

Lantos en 1980, recuerda el descubrimiento de la acción carcinogénica de los compuestos nitrosos por Magee y Barnes en 1956 y el uso de estos compuestos para la producción de tumores neurales, han dado un tremendo estímulo a la neuro-oncología experimental. Fueron Duckrey y colaboradores, quienes observaron que los compuestos nitrosos tienen un sorprendente efecto organotrópico: diferentes compuestos producen tumores de manera selectiva en un órgano particular. Las Nitrosamidas (derivados N-nitrosos de amidas sustituidas) son fuertemente neurotrópicas y son por ello, los carcinógenos de elección en el estudio de neoplasias neurales experimentales (Lantos, 1980).

La neuropatología y las características de crecimiento de estos tumores experimentales son comparables con los gliomas malignos humanos de grado III y IV, de acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), ya que presentan pleomorfismo celular, elevada actividad mitótica, proliferación de vasos sanguíneos, alteración de la BHE, necrosis e invasiones (Bilzer et al., 1989).

Los tumores cerebrales inducidos por nitrosoureas, se han utilizado en investigaciones concernientes al crecimiento y la regresión de gliomas, edema cerebral, inmunología, metabolismo bioquímico regional y terapia experimental de gliomas. Los estudios de estos tumores incluyen morfología convencional, inmunohistoquímica, citoquímica, microscopía electrónica, morfometría, cultivo celular, tecnología hibridoma, transplantes tumorales e imagen regional por autorradiografía, bioluminiscencia, resonancia magnética e inmunocentigrafía (Lantos, 1980).

El ENU es un agente alquilante que puede inducir neoplasmas en el SN usando pequeñas dosis del carcinógeno al ser administrado por vía i.p., lo que provoca una alta incidencia de tumores neurales en las ratas inyectadas durante la segunda mitad de la gestación y en las ratas neonatas. También por medio de este modelo, se han producido otras variedades de tumores en diversos órganos. A dosis altas, se han encontrado tumores en el Sistema Hematopoyético, columna vertebral y útero; así como en glándula mamaria e intestino delgado (Lantos, 1980).

Un aspecto de gran importancia para la utilización de este tipo de compuestos es que se encuentran de manera natural en el medio ambiente y en altas concentraciones en el humo del tabaco, así como en la comida salada y ahumada (Bilzer et al., 1989).

2.1.0. Nivel de incidencia tumoral en el modelo de ENU.

El ENU tiene acción preferencial transplacentar y neonatal, una dosis única produce cerca del 100% de incidencia de tumores en las ratas cuyas madres fueron inyectadas durante la segunda mitad de la gestación y en las ratas neonatas.

Según lo obtenido por Lantos, los neoplasmas así inducidos, fueron encontrados en diversas partes del SN en diferentes períodos de tiempo:

TABLA 4. Incidencia Tumoral del ENU.

Zona del tumor	% de incidencia	Tiempo de desarrollo
Cerebro	25%	245 +/- 80 días
Medula espinal	13%	210 +/- 70 días
Nervios Craneales	24%	190 +/- 50 días
Nervios Periféricos	38%	245 +/- 45 días

2.1.1. Tipos tumorales más comúnmente encontrados.

Histológicamente, los tumores son gliomas del SNC y Schwannomas (neurilemomas) de los nervios craneales y periféricos.

Los tumores inducidos por ENU y Metil Nitroso-Urea (MNU) fueron clasificados por medio de microscopía electrónica y de luz. Se trató de seguir la

clasificación de gliomas humanos, pero algunos tumores no se ajustaban con los tipos histológicos establecidos. Asimismo, se encontraron gran cantidad de oligodendrocitomas y ependimomas (Lantos, 1980).

Una clasificación alternativa fue introducida en 1973 y distingue cinco grupos de tumores inducidos por ENU:

- Gliomas periventriculares de la lámina subependimal.
- Gliomas astrocíticos y oligodendrocíticos.
- Tumores neurales de ganglios espinales e intracraneales y nervios.
- Tumores neurales del SNC.
- Tumores meníngeos.

Los gliomas periventriculares de la lámina subependimal fueron posteriormente divididos en ependimomas y ependimo-oligodendroastrocitomas mezclados (Lantos, 1980).

Por otro lado Bilzer establece que los tipos tumorales más comúnmente inducidos, fueron los oligodendrogliomas. La mayor parte fueron microscópicos y se localizaron periventricularmente y dentro de la sustancia blanca subcortical de los hemisferios. Los neoplasmas encontrados en astrocitomas-oligodendrogliomas mezclados, presentaron desde microtumores hasta tumores detectables a simple vista. Siendo los primeros, los más comúnmente encontrados. Las regiones más afectadas por estos meningeomas y gliopendimomas anaplásicos se encontraron fuera de cerebro y en muy baja frecuencia (Bilzer et al., 1989).

Con respecto a los tumores del SNP, se alojaron principalmente en el nervio trigémino (Bilzer et al., 1989).

2.1.2. Afinidad hacia el SNC.

La susceptibilidad del SN a producir tumores por ENU decrece rápidamente al aumentar la edad y en ratas adultas; el Sistema Hematopoyético es el más frecuentemente involucrado en el proceso neoplásico. Bilzer encontró que los principales sitios de alojamiento de los tumores producidos por ENU fueron:

- 1) Hipocampo y tejidos periventriculares adyacentes;
- 2) Sustancia Blanca Subcortical;
- 3) Ganglios Basales;
- 4) Corteza cerebral y en raras ocasiones,
- 5) Cerebelo y Médula.

La alta sensibilidad del tejido nervioso fetal a los efectos oncogénicos del ENU se demostró por un 100% de incidencia de tumores neurogénicos en crías expuestas transplacentalmente a una dosis única de 20 mg/kg. de ENU o más durante el último trimestre de la gestación. Antes del día 12 de gestación, el feto es altamente susceptible a efectos teratogénicos producidos por el ENU, pero resistente a efectos oncogénicos. Se ha sugerido que en este período temprano de la ontogenia, la cantidad total de células blanco en el SN necesarias para la transformación neoplásica es muy pequeña. La susceptibilidad aumenta conforme avanza el curso de la gestación hasta el parto, declinando postnatalmente. Es por esto que después de 30 días de edad se vuelve difícil, pero no imposible, inducir tumores neurogénicos en ratas con una dosis única de ENU (Stoica y Koestner, 1984; Bilzer et al., 1989).

2.2. Esquema de administración del ENU.

El ENU brinda grandes posibilidades de producción de tumores en el SNC al ser administrado a una dosis única de 50 mg/kg en la vena lateral de la cola en ratas al 20o día de gestación, obteniendo uno o más tumores del SN en todas las crías (Lantos, 1980).

Stoica y Koestner en 1984 encontraron los siguientes datos en relación al ENU:

TABLA 5. Resultados experimentales de la administración del ENU.

DOSIS	ENU (mg/kg)	Incidencias tumorales	Número de ratas afectadas	Sobrevivencia (tiempo)
Menor	45	46%	41%	447 días
Media	90	20%	28%	386 días
Mayor	180	26%	31%	180 días

Lo que demuestra que la administración de una pequeña dosis de ENU asegura la producción de tumores en un gran número de ratas, un mayor porcentaje de incidencias tumorales, así como un tiempo de sobrevivencia mayor.

El tiempo promedio de sobrevivencia de las ratas fue de un año y la menor incidencia de tumores malignos se encontró en las ratas con administración de altas dosis de ENU, en las que ninguna rata sobrevivió al primer año de edad (Stoica y Koestner, 1984).

3. Actividad antitumoral del talio.

3.0. Estudios relacionados con la captura del talio por las células tumorales.

Infinidad de estudios de diversas índoles han sido desarrollados con el fin de destacar la importancia del talio como marcador neural. Uno de ellos es el realizado por Rubertone et al., quien utiliza el Tl^{201} como herramienta para la localización autoradiográfica y el estudio del comportamiento del metal en la médula espinal (Rubertone et al., 1993).

El radioisótopo Tl^{201} ha sido empleado en diversos estudios para la evaluación tanto de la elevada actividad de la ATPasa Na^+/K^+ (Jensen y Norby, 1989), como del marcaje de tumores del miocardio, pulmón y glándulas mamarias de pacientes con cáncer (Ando, 1988; Sehweil, 1988), lo que señala a dicho isótopo como una útil herramienta para el monitoreo celular de este padecimiento.

Análisis microautoradiográficos después de la captura celular *in vivo* del radioisótopo Tl^{201} han revelado una concentración 3.5 veces mayor de éste en las células del tumor en comparación con las células adyacentes. Estos estudios mostraron que la captura de Tl^{201} es específica del tumor, puesto que su distribución no incluye regiones de rompimiento de la B.H.E., por lo que se puede concluir que existe una captura preferencial de talio por las células tumorales a la observada para aquellas que se encuentran en condiciones normales (Ando et al., 1988).

Al comparar dichos resultados con lo evaluado para otros metales radioactivos entre los que se encontraban el ^{42}K , ^{86}Rb y ^{134}Cs , observaron que aquellos iones que exceden los 0.133 nm de radio iónico, y que se presentan

como iones libres en los tejidos fluidos pueden comportarse como el ión potasio (Ando et al., 1988).

Dichos resultados fueron corroborados un año después por Brismar, quien observó gracias a estudios realizados con ayuda de la técnica de “patch clamp” en gliomas humanos, la misma permeabilidad 3.5 veces mayor del talio para su paso a través de los canales de K^+ de la membrana en las células tumorales al compararlas con las normales (Brismar et al., 1989).

3.1. Esquema de administración y estudios previos de actividad antitumoral del metal.

En 1992 emprendimos los estudios de evaluación del posible efecto antitumoral del Tl^+ en tumores del SNC inducidos experimentalmente con la toxina conocida como ENU.

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar preñadas, las cuales recibieron una dosis única de la toxina por vía intravenosa de la cola de 20 mg por rata en el día 18 de gestación. Las crías se mantuvieron en observación bajo condiciones constantes de luz y oscuridad 12:12 horas, a temperatura del cuarto de 24°C, y con comida y agua *ad libitum*. Las crías permanecieron con sus madres hasta los 60 días de edad, fecha en la que se llevó a cabo el destete formándose al azar y por sexos, los distintos lotes experimentales y marcando a cada animal con simbologías numéricas en la cola para su reconocimiento. También fueron utilizadas ratas preñadas a las que no se les administró la toxina y cuyas crías sirvieron como nuestro control de ENU.

Los lotes establecidos fueron los siguientes:

TABLA 6. ESQUEMA DE ADMINISTRACION DEL TRATAMIENTO ANTITUMORAL.

SEXOS	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3
MACHOS	Sol.Salina -Tl	ENU-Sol.Salina	ENU-Tl
HEMBRAS	Sol.Salina -Tl	ENU-Sol.Salina	ENU-Tl

El lote de experimentación sin administración de la toxina, fue creado para observar los posibles efectos tóxicos que podrían causar las dosis de talio administradas a los organismos tratados.

El esquema de administración del tratamiento antitumoral fue el siguiente: La dosis de 1 ml de la solución de 3.2 mg/kg de talio o solución salina (Sol.Sal.) por cada 250g de peso, se dividió entre los cinco días de una semana, por lo que un animal de 250g recibió cada día 0.2 ml de la solución administrada de manera crónica por vía i.p. de Tl+ (3.2 mg/kg) o su volumen equivalente de solución salina. Se dejaban descansar por un intervalo de tres semanas después de la administración del tratamiento, para retomar dicho esquema en la cuarta semana, aplicándose el tratamiento mensualmente por ocho meses (Barroso-Moguel et al., 1994).

Se llevó a cabo el seguimiento de aparición y evolución de los síntomas por un lapso de ocho meses registrando la edad, sexo y diferencias de tratamientos de los organismos, al mismo tiempo que fueron realizados los sacrificios de aquellos que presentaron sintomatologías previamente registradas en la bibliografía, tales como: Ladeos de la cabeza, paraplejias y hemiplejias,

dificultades para respirar, postura encorvada, desviaciones de la columna, deterioro de los músculos faciales y depresión entre otros (Lantos, 1980).

Los resultados obtenidos mostraron que los animales tratados con Tl⁺ presentan una sobrevivencia mayor que la de los animales que sólo recibieron solución salina (8.5%), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

Por otro lado la sobrevivencia de los machos, analizada por efecto del tratamiento con Tl⁺ no mostró ninguna diferencia significativa (-0.3%). Sin embargo, en el caso de la sobrevivencia de las hembras tratadas con el metal fue del 16.5%, siendo estadísticamente significativa.

Estos resultados nos llevaron a pensar que la dosis utilizada de talio podría presentar estos efectos discretos, ya que era muy baja, por lo que los efectos observados fueron de protección ligera en los organismos tratados con respecto a los controles. Las ratas hembra fueron protegidas preferentemente sobre las ratas macho por efecto del tratamiento. En el caso de las hembras, el efecto que tuvo el talio en la sobrevivencia, puede explicarse como consecuencia de una mayor sensibilidad de las hembras a la toxina.

4. Ventajas del análisis de las muestras por Espectrofotometría de Absorción Atómica.

El análisis de muestras de metales de transición tales como el talio, por medio de la Espectrofotometría de Absorción Atómica, está aprobado por diversas razones entre las que destacan su gran capacidad para el análisis de pequeñas concentraciones del mismo en muestras biológicas. Es importante hacer mención de los principios que rigen dicho método para su mejor comprensión. Este método analítico, se basa en el principio que señala que “si un haz de luz de determinada longitud de onda incide sobre un átomo libre en estado basal, éste puede absorber energía radiante y pasar al estado excitado”, lo que se conoce como absorción atómica. Es hasta 1955, cuando el físico australiano Alan Walsh demostró que la absorción atómica podía ser usada como una técnica analítica cuantitativa en el laboratorio químico (Galicia, 1993).

En el caso de los metales, la energía de la mayoría de estas transiciones se encuentra en las regiones ultravioleta y visible del espectro. La característica de interés en las mediciones por absorción es la cantidad de luz, a la longitud de onda de resonancia que es absorbida cuando ésta pasa a través de una nube atómica. Conforme el número de átomos se incrementa en el paso de la luz, la cantidad absorbida se incrementará en forma predecible. La nube de átomos requerida para las mediciones en absorción atómica, es producida por la aplicación de suficiente energía térmica a la muestra para la disociación de los compuestos químicos en átomos libres (Galicia, 1993).

II) Hipótesis.

Si el talio es captado preferencialmente por las células tumorales, entonces su efecto tóxico disminuirá el número de las mismas.

III) Objetivo General.

Evaluar el efecto antitumoral del talio en tumores del SNC de ratas.

IV) Objetivo Particular.

Establecer el efecto antitumoral del talio cuantificando la concentración presente de dicho metal en diferentes órganos después de una administración aguda en ratas con y sin tratamiento antitumoral.

II) Hipótesis.

Si el talio es captado preferencialmente por las células tumorales, entonces su efecto tóxico disminuirá el número de las mismas.

III) Objetivo General.

Evaluar el efecto antitumoral del talio en tumores del SNC de ratas.

IV) Objetivo Particular.

Establecer el efecto antitumoral del talio cuantificando la concentración presente de dicho metal en diferentes órganos después de una administración aguda en ratas con y sin tratamiento antitumoral.

II) Hipótesis.

Si el talio es captado preferencialmente por las células tumorales, entonces su efecto tóxico disminuirá el número de las mismas.

III) Objetivo General.

Evaluar el efecto antitumoral del talio en tumores del SNC de ratas.

IV) Objetivo Particular.

Establecer el efecto antitumoral del talio cuantificando la concentración presente de dicho metal en diferentes órganos después de una administración aguda en ratas con y sin tratamiento antitumoral.

V) METODOLOGIA.

1. ANIMALES.

Para el desarrollo de la presente tesis se utilizaron un total de 17 ratas de la cepa Wistar preñadas. El día 18 de gestación fueron inyectadas por vía i.v. en la cola con una dosis única de 20 mg/kg de ENU. Después de su nacimiento, las crías (183 en total) permanecieron con sus madres hasta los 60 días de edad, fecha en la cual se formaron aleatoriamente cuatro lotes experimentales de la siguiente manera:

- 1) Ratas hembra control con administración de solución salina, n=43.
- 2) Ratas hembra tratadas con administración de la solución de talio, n=46.
- 3) Ratas macho control con administración de solución salina, n=48.
- 4) Ratas macho tratadas con administración de la solución de talio, n=47.

En todos estos casos las ratas hembra preñadas fueron inyectadas con ENU, pero con el fin de comparar los niveles de Tl⁺ y su distribución en el organismo en ausencia de tumores inducidos experimentalmente con ENU, se creó un lote alternativo " sin ENU " como un control. Dicho lote tuvo, de la misma manera, una división por sexos y un tratamiento similar al de los animales con ENU, habiéndoles administrado como en los casos anteriores, una dosis de acetato de talio de 16 mg/kg por vía i.p., 24 horas antes de su sacrificio.

2. TRATAMIENTO.

De acuerdo con el esquema de administración utilizado, tanto el Tl⁺ como la solución salina, fueron administrados con una dosis semanal de 1 ml de la solución de 3.2 mg/kg (1/10 DL50) de acetato de talio o solución salina (Sol.Sal.), administrada por cada 250g de peso, ésta se dividió entre los cinco días de la semana, por lo que un animal de 250g recibió cada día 0.2 ml de dicha solución por vía i.p. Se dejó descansar a los animales por lapso de tres semanas para reanudarse el tratamiento al cabo de un mes para concluir con el tratamiento a los ocho meses de iniciado.

Habiéndose alcanzado tal lapso, a los animales de todos los lotes les fue administrada una dosis de 16 mg/kg 24 horas antes de su sacrificio aprovechando tanto la alta toxicidad del metal, así como su comprobada capacidad como marcador tumoral, realizando posteriormente la disección del SNC y órganos de referencia como: Hígado, riñón, , testículos y corazón para su análisis por EAA.

3. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.

Las muestras de los diferentes tejidos disecados fueron digeridas en 4 ml de ácido nítrico (suprapuro marca Merck) en un baño de agitación (Lab-Line Instruments, Inc. Modelo 3575, Melrose Park U.S.A.) a 60°C y almacenadas en refrigeración hasta el momento de su análisis por EAA con Horno de Grafito.

Entre las razones que nos llevaron a la utilización de esta técnica se encuentran su enorme sensibilidad, el reducido volumen de muestra necesario para su análisis; las determinaciones prácticamente libres de interferencias; la eliminación del riesgo de contaminación gracias a que no necesitan tratamiento

previo y por lo tanto se encuentra reducida su manipulación (Ríos,1983), así como el reducido índice de error en la inyección de las muestras obtenido gracias a la utilización del automuestreador.

4.CONDICIONES INSTRUMENTALES.

Los análisis de las concentraciones de talio en los diferentes tejidos fueron llevados a cabo con las siguientes condiciones:

EAA PERKIN-ELMER:

Longitud de onda 276.8 nm

Amplitud del Slit 0.7 nm

HORNO DE GRAFITO HGA-600

PERIODO	TEMPERATURA (°C)
Secado	90
Calcinado	900
Atomización	2500
Limpieza	2600

5.LIMPIEZA DEL MATERIAL.

El material utilizado para la medición de las concentraciones de talio (tal como tubos de plástico y puntas) fue lavado con etanol y sumergido en una solución al 30% de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}$ durante 24 horas para evitar cualquier tipo de contaminación , enjuagándolos después con agua desionizada y secándolos antes de usar.

6.PREPARACION DE SOLUCIONES.

Para la cuantificación del contenido de talio en cada muestra obtenida, fue necesario realizar una dilución previa empleando un modificador de matriz (como se describe en la técnica de Ríos et al., 1989).

Para ello, las soluciones empleadas fueron:

SOLUCION DE TRITON X-100

Para la preparación de esta solución se disolvió 1 g de la solución de tritón X-100 (Sigma), en un litro de agua, utilizando esta solución para la preparación del modificador de matriz.

MODIFICADOR DE MATRIZ

Se pesó 1g de fosfato de amonio secundario (Merck) por cada 100 ml de solución de tritón X-100 (Sigma) al 0.1%, este modificador de matriz fue utilizado para la elaboración de las diluciones de las muestras así como para la preparación de los estándares de la curva de calibración. Esta solución

modificadora de matriz incrementa la estabilidad térmica del talio en su etapa de calcinado y permite del mismo modo la completa eliminación de dicha matriz a una mayor temperatura que la comúnmente usada para este elemento (600°C) permitiendo que esta alcance los 900°C (Ríos, 1983).

SOLUCION DE 1 ppb DE TALIO.

Los estándares de la curva de calibración de talio, se prepararon también con la solución de 1 ppb de talio, que consiste en la dilución de 1 ml de la solución de 50 ppm en 50 ml de agua desionizada.

ELABORACION DE LA CURVA DE CALIBRACION.

La curva de calibración se corrió con los siguientes estándares:

TABLA 7. PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION.

Estándar	Vol.(µl) Std 1ppb	Vol.(µl) Std modificador
50 ppm	50	950
100 ppm	100	900
150 ppm	150	850
200 ppm	200	800

La curva fue elaborada procurando que el coeficiente de correlación obtenido en cada caso fuera lo más cercano posible a uno.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

Para la inyección de las muestras se realizaron las siguientes diluciones con la solución de modificador mencionada anteriormente:

TABLA 8. DILUCIONES REALIZADAS.

Dilución	Organo
1:10	Corazón
1:20	Médula
1:50	Cerebro, hígado y testículo
1:100	Riñón

NOTA: Posterior a la lectura de cada 20 muestras se corrió una nueva curva de calibración, procurando que su coeficiente de correlación fuera nuevamente lo más cercano posible a uno.

Las concentraciones de talio de las muestras a analizar fueron evaluadas con la ayuda de un EAA Perkin Elmer Modelo 3110 con Horno de Grafito HGA-600 y Automuestreador AS-60 (Perkin Elmer, Norwalk, CT. U.S.A.).

OBTENCION DE RESULTADOS.

Las concentraciones obtenidas del análisis de las muestras por el EAA, se multiplicaron por su factor de dilución y por el volumen adicionado de ácido nítrico suprapuro (4 ml). Dicho resultado se dividió entre el peso del tejido analizado y los resultados reportados en $\mu\text{g/g}$ de tejido (transformación de ng/g de tejido a $\mu\text{g/g}$ de tejido).

VI) Análisis Estadístico.

Los datos fueron analizados con una prueba de análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguida de una prueba de Tukey, considerando valores de $p < 0.05$ y $p < 0.01$ como estadísticamente significativos.(Bhattacharyya and Johnson, 1977).

VII) RESULTADOS.

-Efecto del Tl+ en el cerebro de ratas con o sin administración de ENU.

En la Figura I, se muestran los resultados obtenidos para los diferentes tratamientos. Los resultados se expresan en $\mu\text{g/g}$ de tejido de Tl+.

- Hembras.

En el caso de las hembras, al comparar los niveles de talio de los grupos con ENU con o sin administración del tratamiento "antitumoral", se observó un incremento en los niveles de Tl+ del 49.25% del grupo ENU-Sol.Salina con respecto al grupo ENU-Tl+, siendo esta diferencia estadísticamente significativa con una $p < 0.05$.

- Machos.

Al evaluar las diferencias existentes entre los grupos con la administración de ENU y los diferentes tratamientos (ENU-Sol.Salina; ENU-Tl+), se observó un decremento del 20.26% en los niveles de Tl+ del grupo ENU-Tl+ con respecto al grupo ENU-Sol.Salina, no siendo esta diferencia significativamente estadística.

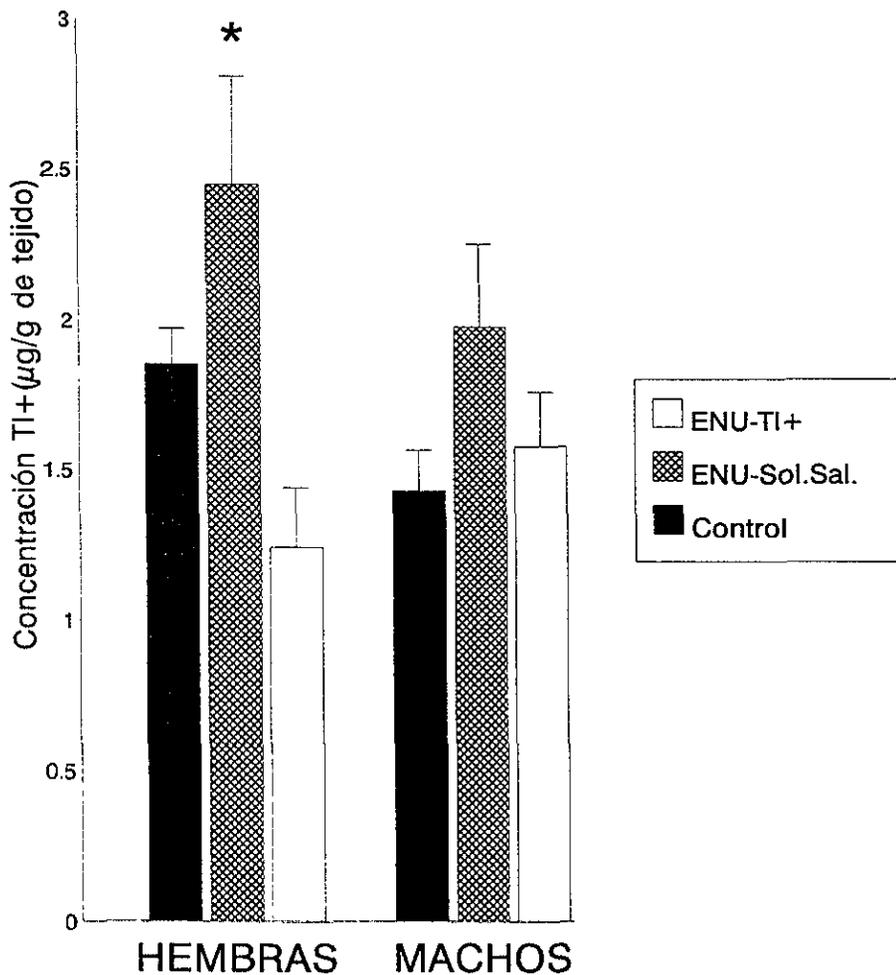


FIGURA I. Concentración de Tl+ en Cerebro. Acumulación del Tl+ por sexos sobre el cerebro de ratas con los diferentes tratamientos a las 24 horas. La concentración de Tl+ se expresa en unidades de µg/g de tejido, $p < 0.05$ $n = 4-6$.

-Acumulación de TI+ en la médula de ratas con o sin administración del ENU.

En la Figura II se muestran los resultados obtenidos para los diferentes tratamientos. Los resultados se expresan en $\mu\text{g/g}$ de tejido.

- Hembras.

En el caso de las hembras, se observó un incremento del 42.27% en los niveles del TI+ en el grupo ENU-TI+ con respecto al grupo Control. Los niveles de talio de los grupos con administración del ENU con y sin el tratamiento, revelan un incremento del 8.91% del grupo ENU-Sol.Salina con respecto al grupo ENU-TI+.

- Machos.

Los machos del grupo ENU-TI+ mostraron un incremento del 86.31% con respecto al Control, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.01$ y $p < 0.05$ utilizando la prueba de Tukey para tratamientos independientes, después de un análisis de varianza de dos vías, ANOVA).

Al evaluar las diferencias entre los grupos ENU-TI+ y ENU-Sol.Salina, se observó un decremento del grupo tratado con talio de un 7.9 % con respecto al grupo ENU-Sol.Salina, siendo esta diferencia no estadísticamente significativa.

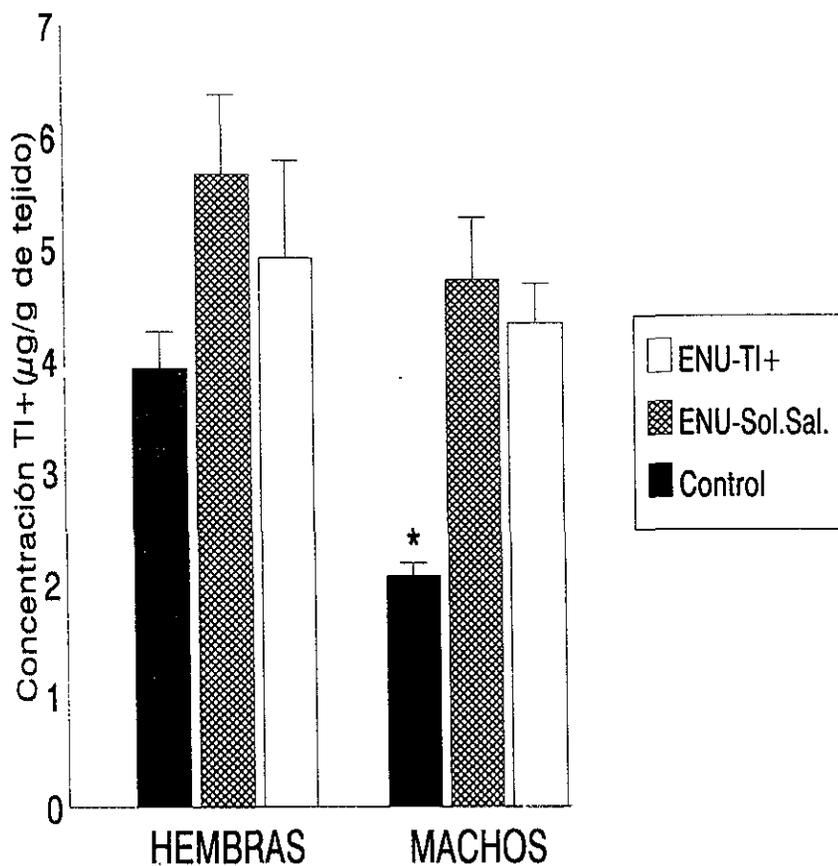


FIGURA II. Concentración de TI+ en Médula. Acumulación del TI+ por sexos en médula de ratas con los diferentes tratamientos a las 24 horas. La concentración de TI+ se expresa en µg/g de tejido, $p < 0.01$ $n = 4-6$.

3) Efecto del TI+ sobre diferentes órganos de ratas con ENU.

Los resultados obtenidos de la evaluación de las concentraciones de TI+ en algunos órganos de las ratas con los diferentes tratamientos, permiten constatar la ausencia de un patrón único que nos lleve a pensar en un comportamiento específico por efecto de la administración de la ENU que altere la distribución del metal. Al contrario, pudimos corroborar que los órganos que encabezan la lista se mantienen, siendo los de mayor concentración del talio el corazón y el riñón, lo que ha sido evaluado en experimentos previos (anteriormente citados), seguidos de los testículos e hígado, los cuales tuvieron las concentraciones más bajas. Aún cuando la tendencia observada fue hacia una mayor captura del metal por las hembras que por los machos; y esta tendencia también fue de una mayor concentración del talio en el grupo con la ENU y sin administración del antitumoral con respecto al grupo con la ENU y la administración del talio, estos resultados no demostraron ser estadísticamente significativos.

VIII) D i s c u s i ó n.

La alta toxicidad que caracteriza al Tl⁺ (Aoyama et al., 1989), su preferencia por el SNC (Galván-Arzate y Ríos, 1994), la afinidad celular por el Tl⁺ en los sitios de unión a K⁺ (Ando et al., 1988; Britten y Blank, 1968; Brismar, 1989), así como la elevada actividad de la ATPasa Na⁺/K⁺ en las células tumorales (Sehweil et al., 1989; Cavanagh et al., 1974), permitieron esta incursión experimental para la evaluación del posible efecto antitumoral del Tl⁺ en organismos con tumores del SNC.

Habiéndose realizado previamente estudios en nuestro grupo de trabajo que demuestran que la dosis letal 50 (DL50) del talio corresponde a los 32 mg/kg (Ríos y Monroy, 1992), y que la mitad de dicha dosis (16 mg/kg) es capaz de causar efectos tóxicos al Sistema Nervioso Central de ratas al ser administrado de forma aguda por vía i.p., permitiendo que su sobrevivencia sobrepase las 24 horas, y habiendo observado que es a este mismo lapso que el talio alcanza su mayor concentración o “pico máximo”, fueron señalados este tiempo y dosis como los ideales para su administración antes del sacrificio de todos los animales con el fin de poder evaluar las concentraciones del metal, ya que como se recordará, el talio no se encuentra de manera usual en los sistemas vivos.

Es después de la administración i.p. de talio (16 mg/kg) 24 horas antes de su sacrificio por decapitación que los niveles de dicho metal fueron cuantificados con la ayuda de un EAA para la evaluación indirecta del número de células neoplásicas presentes para cada tratamiento evaluando de una manera más precisa el posible efecto antitumoral del talio en el Sistema Nervioso Central de ratas.

Efecto antitumoral del Tl⁺ en SNC de ratas.

Cerebro.

Entre los antecedentes al desarrollo de la presente tesis, esta el trabajo realizado previamente por nuestro equipo en el que se evaluó la sobrevivencia de las ratas con los diferentes tratamientos incluídas en la presente tesis (Barroso et al.,1994). Demostrándose una mayor susceptibilidad de las hembras al tratamiento antitumoral como reflejo de una mayor sobrevivencia, la cual fue estadísticamente significativa.

La susceptibilidad de las hembras al tratamiento antitumoral fue corroborado gracias a la utilización del EAA. Los resultados obtenidos demuestran que en el cerebro de las hembras tratadas existe un efecto de disminución en la concentración del Tl⁺ con respecto al grupo con administración de solución salina, lo que podría estar reflejando una disminución en el número de los sitios de unión o de captura del metal de las células del SNC .

Si tomamos en cuenta que dichos sitios de unión, como anteriormente explicamos corresponden a los sitios de unión a potasio (por los que el Tl⁺ tiene 10 veces mas afinidad que el mismo K⁺) (Britten y Blank, 1968) y recordamos que la actividad de la ATPasa Na⁺/K⁺ de las células tumorales se encuentra elevada 3.5 veces mas con respecto a las normales (Brismar et al., 1989), entonces estaríamos cuantificando una disminución en el número de dichas células transformadas en los organismos tratados con talio, lo que a su vez podría ser corroborado por estudios realizados de manera independiente de esta tesis, a los que me permito hacer referencia, y con los que se comprueba este efecto destructor preferencial de las células antitumorales, como fueron estudios ya mencionados de sobrevivencia en los que se encontró una mayor

sobrevivencia en las hembras tratadas con talio; el retardo en la aparición de síntomas de presencia de tumor (entre los que se observó un retardo del 17%) (Barroso-Moguel, 1994); la evaluación de la variación ponderal de los animales a lo largo del estudio, en la que se observó un mayor decremento en el peso de los animales sin tratamiento con respecto al tiempo (resultados no incluidos en la tesis, y que aún no han sido publicados); así como la evaluación proporcional de los tipos tumorales observados para los diferentes grupos, entre los que se observa una proporción mayor de los mismos en los grupos sin tratamiento. Todos estos resultados demuestran la capacidad antitumoral del talio, es decir su gran capacidad para la eliminación preferencial de las células tumorales.

De esta manera, la concentración de Tl⁺ en cerebro para los diferentes tratamientos permite observar una elevada afinidad por el tejido tumoral en los organismos sin el tratamiento (ENU-Sol.Sal.), lo que sugiere una captura preferente del talio por las células tumorales de dichos animales sin tratamiento, en comparación a lo observado para los neoplásicos tratados con Tl⁺ (ENU-Tl⁺).

En resumen, los resultados de cerebro de ratas demuestran:

1) Que el Tl⁺ es un excelente marcador tumoral, ya que su concentración sólo aumentó con los organismos con neoplasia, lo cual concuerda con lo reportado por Ando et al.(1988) y Sehweil et al.(1988); 2) la utilidad del talio para el monitoreo cuantitativo de la proliferación celular asociada a tumores del SNC de ratas y 3) la capacidad del Tl⁺ como agente antitumoral en las **hembras** con el tratamiento, siendo la diferencia entre los grupos con la administración del promotor de tumores con y sin tratamiento, la cual resultó ser estadísticamente significativa.

Con respecto al efecto antitumoral del talio en el cerebro de los **machos**, la concentración de Tl⁺ de los grupos tratados no presentó cambios tan evidentes.

Sin embargo, su comportamiento es el mismo sin ser esta diferencia estadísticamente significativa.

Estos resultados nos hacen pensar que pudiera existir una relación hormonal que facilite la acción antitumoral del metal preferentemente sobre las hembras que sobre los machos. Otra explicación a este comportamiento podría estar relacionada con diferencias en el metabolismo que favorezcan la eliminación del metal en los machos mas que en las hembras, lo cual no ha sido reportado aún . También es importante mencionar que las diferencias basales entre hembras y machos van de acuerdo a lo reportado anteriormente por nuestro grupo de trabajo (Barroso-Moguel), y que corresponde a la ratificación de una mayor susceptibilidad al talio en las hembras a lo evaluado para los machos (Figura I).

Médula Espinal.

En la médula de las hembras, podemos observar una mayor captura del Tl^{+} por los organismos sin el tratamiento con el metal (ENU-Sol.Sal.). Dichos resultados, aún cuando no representan una diferencia estadísticamente significativa, evidencian un comportamiento similar a lo evaluado en cerebro (Figura II).

En la médula de los machos, podemos observar que los niveles de talio del grupo control se encuentran disminuidos con respecto a los niveles del grupo control de las hembras, estadísticamente significativo, reflejando una mayor susceptibilidad de la médula de las hembras a la captura del talio o una gran capacidad de eliminación del metal por los machos, lo que concuerda con lo estimado para cerebro.

Por otro lado, a pesar de que las concentraciones de talio evaluadas para la médula espinal son más elevadas que para cerebro, podemos observar que el efecto antitumoral fue más discreto y tomando en cuenta que las diferencias entre los grupos tratados y controles son mayores en el caso del cerebro que en la médula espinal, podríamos pensar en una mayor proporción de tumores en el cerebro a lo observado para la médula espinal. Lo que corroboran los estudios previamente realizados para ambas regiones del S.N.C. en los que se observó un mayor porcentaje de incidencia tumoral en el caso de cerebro (25%), con respecto a lo evaluado para el caso de la médula espinal (13%). (Lantos, 1980).

Otra explicación para este fenómeno, podría estar relacionada con la captura del talio por la médula espinal. Los datos son escasos pero se sabe que existen alteraciones de las células ganglionares de las astas ventrales y dorsales en los casos de intoxicación crónica con talio (Lohmann et al., 1989), como fué el esquema de administración utilizado para el desarrollo del presente trabajo.

Estudios previos realizados por Díaz y Monreal demuestran que el talio en su estado de oxidación Tl^{+3} , es capaz de atravesar las bicapas lipídicas de sinaptosomas de médula espinal, permitiendo así no sólo su entrada a las células nerviosas de dicha región sino también permitiendo una mayor difusión del ión y su acumulación preferente en tejidos ricos en lípidos y mielina. Siendo ésta última más abundante en la médula espinal que en el cerebro, ésto podría constituir una diferencia relevante que arroje luz sobre el mecanismo por medio del cual el talio es capaz de difundir y acumularse de manera preferente en las células nerviosas de la médula espinal (Díaz y Monreal, 1994).

Los autores por otro lado, proponen que debido a que ambos estados de oxidación del talio (Tl^{+1} y Tl^{+3}) son capaces de producir una toxicidad similar y basándose en el hecho de que el único estado de oxidación que ha demostrado tener dicha capacidad de difundir es el Tl^{+3} , el Tl^{+1} debe reducirse a Tl^{+3} ,

permitiendo de esta manera una mejor difusión a través de las membranas (Díaz y Monreal, 1994).

Además, tanto en el caso de médula como de cerebro, es importante recalcar que los niveles máximos de talio alcanzados no repercutieron en la aparición de importantes síntomas sistémicos de envenenamiento por talio en los animales tratados con el metal.

Habiéndose observado que dicho metal tiene un efecto discreto sin llegar a representar niveles tóxicos a las ratas, podríamos proponer gracias al amplio rango de dosificación permisible, el continuar estos estudios a mayores dosis del metal con el fin de observar si existe un cambio en los resultados que haga mas evidente el posible efecto antitumoral del talio .

De esta manera, al demostrarse que la dosis utilizada no produjo signos de toxicidad en los animales tratados, se sugiere la utilización del talio en la terapéutica humana, apoyado por existencia de antecedentes de su uso para el tratamiento de diversos padecimientos y habiéndose descrito de la misma manera , las concentraciones permisibles.

Otra alternativa es el uso de mecanismos que aseguren la rápida y eficaz entrada del talio a las células tumorales destruyéndolas. Tal es el caso de los quelantes, sustancias que contienen dos o mas grupos donadores que pueden combinarse con un metal para formar un tipo especial de complejo conocido como quelato. Dichas sustancias pueden unirse a metales tales como el talio, permitiendo de manera mas efectiva su transporte hacia el SNC (Martin, 1993).

Como mencionamos anteriormente, existen una gran diversidad de compuestos que han sido utilizados como antídotos para el tratamiento de la taliotoxicosis y que sin embargo, lo redistribuyen permitiendo su acumulación en el SNC. Es utilizando alguno de estos compuestos que podríamos asegurar la llegada del talio hasta el SNC (Kamerbeek, 1971).

3) Otros órganos evaluados.

En cuanto a los resultados obtenidos del análisis de los diferentes órganos, es importante hacer mención de la no diferencia estadística del incremento en las concentraciones de talio del grupo de ENU-Sol.Sal. con respecto al grupo ENU-TI+ y del grupo de las hembras con respecto al de los machos.

Estos resultados reflejan una vez mas la especificidad del ENU por el SNC (Lantos, 1980), ya que como se esperaba esta toxina no provocó ningún otro cambio en el metabolismo de los animales a no ser por supuesto, en la promoción de tumores del SNC. Por otro lado, la distribución del metal en los diferentes órganos, no se vio alterada, siendo los tejidos de alto contenido muscular (como el corazón), los de mayor captura del metal, seguido de aquellos órganos involucrados en la eliminación del mismo. Dichos resultados concuerdan con lo reportado por Achenbach, quien refiere que en algunos casos el músculo podría tener un intercambio K^+/TI^+ mas acelerado aún que el período de excreción hepatorenal (Achenbach et al., 1980).

IX) CONCLUSIONES.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente tesis, podemos concluir:

1. El TI+ demostró un aumento en los animales con posibilidad de presencia de tumor.
2. Encontramos una relación de mayor efecto antitumoral (mayor susceptibilidad al tratamiento) en el cerebro de las ratas hembra estadísticamente significativa, con respecto a lo evaluado para las ratas macho, las que no mostraron diferencias estadísticamente significativas a este respecto, teniendo sin embargo una tendencia similar aunque menos evidente.
3. La captura de talio por la médula espinal mostró un comportamiento similar al observado en el cerebro de hembras, sin ser observado un efecto antitumoral claro. Nuevamente, el efecto antitumoral demostró ser más discreto en los machos.
4. La dosis utilizada provocó efectos discretos en la acumulación del metal en tejidos como marcador del efecto antitumoral, lo que concuerda con lo anteriormente obtenido por nuestro equipo de trabajo y que lo postula como buena alternativa para el tratamiento de tumores del SNC, ya que sus niveles no alcanzaron ni 1/6 parte de la dosis considerada como tóxica para ratas, lo que nos da un amplio rango para la utilización de dosis más elevadas o la implementación de nuevas técnicas para optimizar su llegada al cerebro sin causar daño a las células normales.

5. Con respecto a lo evaluado en relación con los índices de captura del talio para los demás órganos disecados, podemos concluir que no se presentaron cambios importantes en la distribución del metal y sus preferencias tisulares a causa de la administración del ENU.

6. De esta manera, podemos concluir que el TI+ promete ser una medida terapéutica eficaz para el tratamiento de los tumores del SNC, siendo necesario continuar con estos estudios a fin de corroborarlo.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

X) Referencias.

Achenbach, C., Hauswirth, O., Heindrichs, C., Ziskoven R. Qualitative, Köhler, F., Bahr, U., Heindrichs A. and Schulten H.-R. Measurement of Time-dependent Thallium Distribution in organs of Mice by Field Desorption Mass Spectrometry. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 6: 519-528 (1980).

Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. Watson J.D. *Biología Molecular de la célula*. Omega, España. p: 306-310 (1985).

Andersen O. Clinical Evidence and Therapeutic Indications in Neurotoxicology, Exemplified by Thallotoxicosis. *Acta Neurol.Scand.* 70 (suppl.100): 185-192 (1984).

Ando A., Ando I., Katayama M., Sanada S., Hiraki T., Mori H., Tonami N. and Hisada K. Biodistributions of Radioactive Alkaline Metals in Tumor Bearing Animals: Comparison with Tl ²⁰¹ Eur.J.Nucl.Med. 14: 352-357 (1988).

Aoyama H., Yoshida M. and Yamamura Y. Acute poisoning by intentional ingestion of Thallous Malonate. *Human Toxicol.* 5: 389-392 (1986).

Aoyama H., Yoshida M. and Yamamura Y. Induction of lipid peroxidation in tissues of thallous malonate-treated hamster. *Toxicology* 53: 11-18 (1988).

Aoyama H. Distribution and excretion of thallium oral and intraperitoneal administration of thallous malonate and thallous sulfate in hamsters. *Bull.Environ.Contam.Toxicol.* 42: 456-463 (1989).

Barroso-Moguel, R., Galván-Arzate, S., Villeda-Hernández, J., Méndez-Armenta, M., Alcaraz-Zubeldia, M. and Ríos C. Antitumoral effect of thallium against N- Ethyl- N- Nitroso- Urea- induced brain tumors. *Proc.West.Pharmacol.Soc.* 37: 27-28 (1994).

- Bhattacharyya, G.K. & Johnson, R.A.** Statistical concepts and Methods. John Wiley & sons Editors: 455-457. USA (1977).
- Bilzer T., Reifenger G. and Weschler W.** Chemical Induction of Brain Tumors in rats by Nitrosoureas: Molecular Biology and Neuropathology. Neurobiology and Teratology. 11: 551-556 (1989).
- Bostian K. and Bets G.F.** Thallium activation and inhibition of yeast aldehyde dehydrogenase. FEBS Letters. Vol.59 No.1 (Nov.1975).
- Brismar T., Collins P.V. and Kesselberg.**Thallium-201 uptake relates to membrane potential and potassium permeability in human glioma cells. Brain Research. 500: 30-36 (1989).
- Britten J.S. and Blank M.** Thallium Activation of the (Na⁺/K⁺)-Activated ATPase of rabbit kidney. Biochimica et Biophysica Acta, 158: 160-166 (1968).
- Cavanagh J.B., Fuller N.H., Johnson H.R.M. and Rudge P.** The Effect of Thallium Salts, with Particular Reference to the Nervous System Changes. A report of three cases. Quarterly Journal of Medicine, New Series. Abril XLIII, 170: 293-319 (1974).
- Chamberlain P.H.** Thallium poisoning. Pediatrics. Dec: 1170-1181 (1958).
- Chandler H.A. and Scott M.** Determination of low levels of Thallium in urine using chelation with Sodium Diethyldithiocarbamate, extaction into Toluene, and Atomic Absorption Spectrophotometry with electrothermal atomization. Atomic Spectroscopy. 5, 6, Dec: 230-233 (1984).
- De Fernícola N.A.G.G. and Jauge P.** Nociones Básicas de Toxicología. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud; Organización Panamericana de la Salud; Organización Mundial de la Salud. Cap. 1: 23-24. México, D.F. (1985).
- Díaz S.R. and Monreal J.** Thallium mediates a rapid chloride/hydroxyl ion exchange through myelin lipid bilayers. Molecular Pharmacology. 46: 1210-1216 (1994).

- Ellenhorn** J.M. and **Barceloux** G.D. *Medical Toxicology. Diagnosis and Treatment of Human Poisoning.* Elsevier Science Publishers. N.Y.USA. (1988).
- Favari** L. and **Mourelle** M. Thallium replaces potassium in activation of the (Na⁺/K⁺)-ATPase of rat liver plasma membranes *J. of Appl.Toxicol.* Vol.5 No.1 (1985).
- Galicía** G. V. Niveles de cadmio en sangre del neonato, el cordón umbilical y la madre en una muestra piloto de la Ciudad de México. Tesis de Licenciatura para la obtención del título de Químico Farmacéutico Biólogo de la Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México (1993).
- Galván** A.S. Acumulación de talio en el Sistema Nervioso Central y órganos de la rata en desarrollo. Tesis de Licenciatura para obtener el título de Biólogo de la Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. México, D.F. (1992).
- Galván** A.S. and **Ríos** C. Thallium distribution in organs and brain regions of developing rats. *Toxicology* 90: 63-69 (1994).
- Inturrisi** C. E. Thallium activation of K⁺-activated phosphatases from beef brain. *Biochim. et Biophys. Acta*, 173: 567-569 (1969).
- Izmerov** N.F. Thallium " Scientific Reviews of Soviet Literature on toxicity and hazards of chemicals ". Chapt. 17. *Int.Register of potentially toxic chemicals.* Moscow (1982).
- Jensen** J. and **Norby** J.G. Membrane bound Na⁺/K⁺-ATPase: Target Size and Radiation inactivation size of some of its enzymatic reactions. *The Journal of Biol. Chem.* Vol. 263 No.34 Issue of Dec. 5: 18063-18070 (1988).
- Jensen** J. and **Norby** J.G. Thallium binding to native and radiation inactivated Na⁺/K⁺-ATPase. *Biochem. et Biophys. Acta.* 985: 248-254 (1989).

- Juárez A.G., Manzo P.E. y Díaz de León, P.M.** Intoxicación grave por talio. Presentación de un caso y revisión de su manejo. *Rev. Med. IMSS (Mex)* 26: 315-319 (1988).
- Kamerbeek H.H., Raws A.G., Ham M. and van Heijst A.N.P.** Dangerous redistribution of thallium by treatment with sodium diethyldithiocarbamate. *Acta Med. Scand.* 189: 149-156 (1971).
- Kamerbeek H.H., Raws A.G., Ham M. and van Heijst A.N.P.** Prussian Blue in therapy of Thallotoxicosis. *Acta Med.Scand.* 189: 311-321 (1972)
- Lantos P.L.** Chemical Induction of tumors in the Central nervous System. Chap.5 In: *Brain Tumours: Scientific Basis, Clinical Investigation and Current Therapy.* London, Butterworths. (1980).
- Lehninger A.L.** *Biochemistry.* Chapter 15: 387-416. Second Edition. Ed. Worth Publishers, Inc (1981).
- Liem I., Kaiser G. and Sager M.** The Determination of Thallium in rocks and biological materials at ng/ μ g levels by Differential-Pulse Anodic Stripping Voltametry and Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. *Analytica et Chimica Acta,* 158: 179-197 (1984).
- Loera G.R.** *Curso Básico de Toxicología Ambiental.* Capítulo 17: 276-302 "Nitratos, Nitritos y Compuestos de N- Nitroso". Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de la Salud. OMS. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Lilia A. Albert (Editora) (1985).
- Lohmann, H., Csicsaky, M. and Wiegand H.** The Action of Thallium on the Excitability of piramidal cells in hipocampal slices. *Neurotox. and Teratol.* 11: 545-549 (1989).

- Luckit J.**, Mir N., Hargreaves M., Costello C. and Gazzard B. Trombocytopenia associated with thallium poisoning. *Human and Exper. Toxicology* 9: 47-48 (1990).
- Marmo E.**, Matera, G., Acampora, R., Vacca, C., De Santis, D., Maione, S., Susanna, V., Chieppa, S., Guarino, V., Servodio, R., Cuparencu, B. and Rossi, F. Prenatal and Postnatal Metal Exposure Effect on Vasomotor Reactivity Development of Pups. *Curr. Ther.Res.* Vol. 42, No.5 (Nov.1987).
- Martin, A.** Physical Pharmacy. *Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences*. Chapter 11: 251-257. "Complexation and Protein Binding". Ed. Lea and Febinger. London. Fourth Edition (1993).
- Meggs, W.J.**, Hoffman R.S., Shih R.D., Weisman R.S. and Goldfrank L.R. Thallium poisoning from maliciously contaminated food. *Clinical Toxicology* 32 (6): 723-730 (1994).
- Melnick R.L.**, Monti L.G. and Motzkin. Uncoupling of Mitochondrial Oxidative Phosphorilation by Thallium. *Bioch.Bioph.Acta.* 69: 1,1976.
- Moeschlin, Sven.** Thallium poisoning. *Review. Clin.Toxicol.*, 17 (1): 133-146 (1980).
- Montoya C.M.A.**, Pérez L.C., Badillo T.F.J., Barquet, B.R.M. y Bárcenas, L.J. Intoxicación por talio. Tratamiento con D-Penicilamina. *Rev.Med. IMSS* 18: 211 (1979).
- Montoya C.M.A.**, López M.G. y García R.M. Intoxicación por talio. 23, 1: 65-70 (1985).
- Mulkey, J.P.** and Oheme, F.W. Scientific Reviews: A review of Thallium Toxicity. *Vet.Human Toxicol.* 35, 5. Oct.: 445-453 (1993).
- Paulson G.** and Vergara G. Thallium intoxication treated with Dithizone and Hemodialysis. *Arch. Intern. Med.* Vol.129, Jan.: 100-102 (1972).

- Prick J.J.** Thallium poisoning. In: Handbook of Clinical Neurology. Vol. 36. Pag 239-278 (1979).
- Rade R.E., Marafante E., Sabionni E., Di Nucci, A. and Mazo L.** Placental transfer and retention of Tl-201 Thallium in the rat. Toxicology Letters. 11: 275-280 (1982).
- Raws A.G.** Thallium Pharmacokinetics and Its Modification by Prussian-Blue. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol. 284: 295-306 (1974).
- Reed D., Crawley J., Stanley N., Pieper S.J. and Kurland L.T.** Thallotoxicosis. Jama. 183, 7: 516-522 (1963).
- Repetto, M.** Toxicología fundamental. Ed. Científico-Médica. Sevilla, España. p. 140-141 (1981).
- Ríos, C.** Determinación de Plomo, Manganeso y Cobalto en sangre por Espectrofotometría de Absorción Atómica con horno de grafito. Tesis de Licenciatura para obtener el título de Químico de la Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. México, D.F. (1983).
- Ríos, C., Galván-Arzate S., and Tapia, R.** Brain regional Thallium Distribution in rats acutely intoxicated with Tl₂SO₄. Arch. Toxicol. 63: 34-37 (1989).
- Ríos, C. and Monroy-Noyola A.** D-Penicillamine and Prussian-Blue as antidotes against thallium intoxication in rats. Toxicology 74: 69-76 (1992).
- Rossi, F., Cazzola, D., De Santis, D., Lisa, M., Servodio, R., Guarino V., Fici F. and Marmo, E.** Cardiovascular effects of thallium sulfate after cerebroventricular administrations in normotensive rats. Current Therapeutic Research. 42 (5): 778-779 (1987).
- Rubertone, J.A., Woo, D., Emrich J.G., and Brady, L.** Brain Uptake of Thallium-201 from the Cerebrospinal Fluid Compartment. J.Nucl.Med.; 34: 99-103 (1993).

Sehweil, A.M., McKillop, J.H., Ziada, G., Al-Sayed, M., Abdel-Dayem, H. and Omar, Y.T. The optimum time for tumor imaging with thallium-201. *Eur.J.Nucl.Med.*13: 527-529 (1988).

Sehweil, A.M., McKillop, J.H., Milroy R., Wilson R., Abdel-Dayem H. and Omar Y.T. Mechanism of Tl-201 Uptake in Tumors. *Eur.J.Nucl.Med.* 15: 375-379 (1989).

Skulskii I.A., Savina M.V., Glasunov V.V. and Saris N.E.L. Electrophoretic Transport of Tl⁺ in Mitochondria. *J.Membrane Biol.* 44: 187-194 (1978).

Smith, D.H. and Doherty R. Thallitoxicosis: Report of three cases in Massachusetts. *Pediatrics.* October 480-490 (1964).

Stoica, G. and Koestner, A. Diverse Spectrum of tumours in Sprague-Dawley rats Following Single High Doses of N-Ethyl-N-Nitroso-Urea (ENU). *Am.J.Pathol.* 116:319-326 (1984).