



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DE LA AVERSION CONDICIONADA AL ACETATO DE TALIO SOBRE EL CONSUMO DE AGUA DE BEBIDA EN RELACION A LA CONCENTRACION DEL METAL EN EL ENCEFALO DE RATAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

MARIA LETICIA ANDRES MARTINEZ

ASESORES: BIOL. SONIA GALVAN ARZATE
MVZ. RENE ROSILES MARTINEZ
DR. LUIS CAMILO RIOS CASTAÑEDA



MÉXICO, D. F.

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**EFFECTO DE LA AVERSION CONDICIONADA AL ACETATO DE TALIO
SOBRE EL CONSUMO DE AGUA DE BEBIDA EN RELACION A LA
CONCENTRACION DEL METAL EN EL ENCEFALO DE RATAS**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista

por

MARIA LETICIA ANDRES MARTINEZ

ASESORES:

BIOL. SONIA GALVAN ARZATE

MVZ. RENE ROSILES MARTINEZ

DR. LUIS CAMILO RIOS CASTAÑEDA

México, D.F., 2002

DEDICATORIA

A mí Madre Josefina Martínez Guerrero: por el apoyo y comprensión que me ha brindado en mi vida.

A mis hermanos: Francisco, Lourdes, Antonia, Hugo, Oscar, Ma. del Carmén, Araceli, Luz María: por confiar siempre en mí.

Con todo cariño y amor a mi hijo Luis Eduardo: por ser lo más hermoso y maravilloso que me ha dado la vida, que tan solo con escuchar su risa y ver sus ojos me motiva a seguir adelante.

A José Luis García con todo cariño: por haber confiado en mí brindándome su apoyo y comprensión.

A mi gran amiga Argelia Martínez: por su confianza, brindándome siempre su amistad y apoyo incondicional.

A Reina Muñoz: por su amistad y confianza y por ser una gran amiga.

A Sonia Galván: por su amistad, paciencia y comprensión, apoyándome siempre en todo.

Al M.V.Z. Héctor Malagón: por confiar en mí y por su amistad.

Gracias a Dios y la Vida por darme todo lo que tengo, llegando a cumplir unos de mis objetivos en la vida.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez" por haberme proporcionado todas las facilidades para la realización de este trabajo.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por haberme fomado como profesionista.

Al Dr. Luis Camilo Ríos por darme la oportunidad de realizar mi tesis de licenciatura en el Departamento de Neuroquímica.

Al M.V.Z Leopoldo E. Flores por haber confiado siempre en mi.

Al Dr. Abel Santamaria por sus valiosos conocimientos que me ayudaron en la realización de este trabajo.

A la Biologa Sonia Galván por sus comentarios, observaciones y sugerencias para la realización de este trabajo.

A la Biologa Laura Osorio por su apoyo académico.

A mis Asesores: por sus conocimientos e ideas en la elaboración de este trabajo.

Biologa Sonia Galván Arzate
M.V.Z René Rosiles Martínez
Dr. Luis C. Ríos Castañeda

A mis Sinodales: por la revisión de este trabajo, por sus observaciones y comentarios.

M.V.Z Carlos Villagrán Velez.
M.V.Z Enedina Silva Cabrera.
M.V.Z Janitzio Bautista Ordoñez.
M.V.Z Arturo Carmona Mancilla.
M.V.Z René Rosiles Martínez.

CONTENIDO

RESUMEN	1
I. INTRODUCCION	2
I.1 Generalidades del talio	2
I.2 Absorción de talio	5
I.3 Distribución del metal en el organismo	6
I.4 Concentración del metal en los tejidos	6
I.5 Órganos y Sistemas afectados	7
I.5.1 Sistema Nervioso Central	7
I.5.2 Tracto Gastrointestinal	7
I.5.3 Piel	8
I.6 Excreción del metal	8
I.7 Condicionamiento Aversivo a los sabores	9
II. HIPOTESIS	12
III. OBJETIVOS	13
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	14
IV.1 Reactivos y Equipo	14
IV.2 Animales	14
IV.3 Grupos experimentales	14
IV.4 Alojamiento de los animales	14
IV.5 Metodología	14

IV.6 Sacrificio de los animales y Análisis de las muestras	15
V. RESULTADOS	16
VI. DISCUSION	19
VII. CONCLUSIONES	22
VIII. LITERATURA CITADA	23
FIGURA 1	27
FIGURA 2	28
FIGURA 3	29
FIGURA 4	30
FIGURA 5	31
FIGURA 6	32
FIGURA 7	33
FIGURA 8	34
FIGURA 9	35

RESUMEN

ANDRÉS MARTÍNEZ, MARIA LETICIA. Efecto de la aversión condicionada al acetato de talio sobre el consumo de agua de bebida en relación a la concentración del metal en el encéfalo de ratas (bajo la dirección de: Sonia Galván Arzate, René Rosiles Martínez y Luis Camilo Ríos Castañeda).

En este experimento se evaluó el consumo de agua saborizada (jarabe de uva), adicionada con acetato de talio (AcTl) así como la concentración del metal en el encéfalo de rata, utilizando el paradigma de condicionamiento aversivo al sabor. Los animales se sometieron a un período de habituación de 7 días, en donde cada rata tuvo acceso a dos bebederos, uno con agua potable y otro con agua saborizada (sin talio), durante 15 minutos cada 24 hrs, midiendo el consumo diario de ambos líquidos. Terminado el período de habituación se continuó con el período de condicionamiento aversivo bajo las mismas condiciones anteriores, agregando AcTl (10, 20 y 40 ppm) en el agua saborizada. Al finalizar el tratamiento el encéfalo de las ratas se procesó para cuantificar la concentración del metal. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon las siguientes condiciones: el consumo de líquidos entre los períodos de habituación y condicionamiento aversivo, el consumo de agua potable contra el agua saborizada y también entre las concentraciones del metal en el encéfalo de ratas. No hubo diferencias en el peso con respecto a los tratamientos utilizados. Podemos concluir que a pesar de que hubo un menor consumo de agua saborizada con talio a la concentración más alta, en los animales de ese tratamiento se encontró mayor concentración del metal en el encéfalo. No se pudo observar el condicionamiento aversivo al sabor porque las ratas no distinguieron la substancia que les provocaba el malestar.

I. INTRODUCCION

I.1 Generalidades del talio

El talio (Tl) es un metal tóxico que ha adquirido una creciente importancia, fué descubierto por William Crookes (1832-1919). La primera evidencia de la presencia del talio fué mientras Crookes examinaba residuos de selenio de una fábrica de ácido sulfúrico en Alemania en mayo de 1861, el metal fué clasificado en la familia del azufre y más tarde fué incluido por Mendeleev en el grupo III A de la tabla periódica de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas, con símbolo Tl (1). El Tl es un metal pesado incoloro, inodoro e insípido (2). Está localizado en la tabla periódica entre el mercurio y el plomo siendo electropositivos, es considerado como un ácido débil. Tiene dos valencias: Tl⁺ (monovalente) y Tl³⁺ (trivalente). El talio tiende a formar complejos estables con grupos sulfuros, los compuestos inorgánicos Tl son más estables que el análogo Tl en solución acuosa a pH neutro. En contraste, los compuestos organotálícos covalentes son estables sólo en la forma trivalente (1,3).

El talio fue introducido terapéuticamente para la sífilis en 1883, para la depilación en 1897, para las sudoraciones nocturnas producidas por tuberculosis en 1898, y para micosis del cuero cabelludo en 1919 (4).

En 1920 en Alemania se comercializó el sulfato de talio con el nombre genérico de zelio como veneno para roedores, y más tarde en insecticidas. El gobiernos de los Estados Unidos prohibió en 1965 el uso de las sales de talio en los rodenticidas por intoxicaciones en humanos y en 1973 la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos solicitó la salida del mercado de los

pesticidas que tuvieran talio (5). A pesar de que el talio no es uno de los pesticidas más vendidos en los países desarrollados, aún es usado en muchos países en desarrollo debido a su bajo costo, utilizándose como un instrumento de suicidio o asesinato. Los usos médicos del talio han sido discontinuados en muchos países debido a su toxicidad en personas (6).

La principal fuente de talio son las plantas energéticas de carbón quemado, minería y fundidoras (Pb, Zn, Cd, Fe, etc.), la producción de ácido sulfúrico, industrias cementeras, autoemisión y el uso en la agricultura de fertilizantes de fosfatos (7).

El talio se encuentra en pequeñas concentraciones en minerales de sulfuro (Fe, Pb y Zn), los cuales son empleados comúnmente para la producción de ácido sulfúrico. En procesos de calcinación, el talio puede aparecer en el polvo de la chimenea o en el limo de la cámara de plomo o en las cenizas de pirita la cual se usa en la industria cementera (8).

También ha sido detectado en rocas volcánicas, meteoritos y plantas. El talio se concentra en minerales magnéticos de potasio tales como feldespatos y micas. La concentración natural de talio en el agua salada y dulce se estima que es menor a 0.03 ppb (3,9).

Algunas personas almacenan en sus casas plaguicidas que contienen talio, causando envenenamientos esporádicos, debido a descuidos en el manejo (10).

El talio liberado al medio ambiente afecta a diferentes niveles tróficos, habiendo casos de envenenamientos por consumir vegetales y fruta contaminada que fueron cultivados en la cercanía de plantas cementeras. También se han reportado intoxicaciones accidentales con talio por haber ingerido alimentos, hierbas y medicinas contaminadas con talio (7,11).

Los compuestos como sulfato de talio (Tl_2SO_4), acetato de talio (CH_3COOTl) y el carbonato de talio (Tl_2CO_3) son más tóxicos comparados con los menos solubles como sulfuro de talio (Tl_2S) y

yoduro de talio (TlI) (12). Las especialmente tóxicas sales de acetato de talio son responsables de numerosas muertes en animales domésticos. Andreóni reportó en 1942 que la dosis mínima letal del acetato de talio en animales domésticos como caballos, vacas, corderos, becerros y borregos es de 10-24 mg/kg de peso (13). Se informa que en ratas la dosis letal 50 (DL₅₀) de acetato de talio es de 32 mg/kg de peso; la DL₅₀ de sulfato de talio es 10-15 mg/kg peso, reportándose fatalidad con 8 mg/kg (14). También se han reportado muertes después de una ingestión de 5-10gr de nitrato de talio y 10gr de malonato de talio (15).

El promedio diario de captación de talio de origen ambiental en humanos es menor de 2 µg en promedio en una amplia variedad de zonas geográficas (16).

El cuadro clínico de envenenamiento por talio depende del tiempo y nivel de exposición, la velocidad de absorción y la susceptibilidad individual de cada organismo. Los signos pueden ser variables, los primeros síntomas pueden aparecer después de varias horas o después de algunos días. La intoxicación con talio ocurre frecuentemente en personas que son más susceptibles al estrés que los individuos estables, por lo que en éstos la intoxicación generalmente es más severa y a menudo letal (1,17).

El mecanismo por el cual el talio actúa como tóxico aún no está confirmado, hay muchas teorías, la más reciente sugiere que se debe a desórdenes metabólicos, los cuales parecen ser los responsables del daño a tejido nervioso, piel y corazón.

El talio provoca una disminución de las flavoproteínas, lo cual daña el funcionamiento de vías metabólicas concentrándose en la cadena de transporte de electrones (17).

I.2 Absorción de Talio

Cualquiera que sea la vía de administración (oral, dérmica o inhalada), la absorción de talio es rápida. Las sales de talio solubles en agua (principalmente sulfato, acetato y carbonato), se absorben rápidamente por membranas mucosas en comparación de las menos solubles en agua (yoduros) (8,18).

El talio puede ser detectado en orina y en heces dentro de las primeras horas, mostrando dos picos en plasma después de una administración oral. Sin embargo la absorción puede retardarse debido al estreñimiento provocado por el metal (19).

El talio se absorbe por el tracto gastrointestinal y por la piel, distribuyéndose en todo el organismo, acumulándose principalmente en el cerebro, riñón, hígado, pulmón y corazón, lo que origina que se presenten signos clínicos: vómito, dolor abdominal, náusea, diarrea y la hematesis ocasional. Un signo característico es la pigmentación oscura de la raíz de cabello que se presenta a partir del cuarto día. (14, 20).

Cuando son ingeridas dosis grandes puede aparecer parestesia, letargia, delirio, convulsiones y coma siguiendo anomalías miocárdicas, daño respiratorio central e incluso la muerte (21,22).

Después de un período de latencia de 3 a 7 días es afectado el Sistema Nervioso en el cual se desarrolla una gradual hiperestesia, parestesia e hiperalgesia de los miembros inferiores (afectando principalmente la planta de los pies), seguida de la debilidad motora de las extremidades inferiores e hidropesía de pies, hay participación del nervio craneal y encefalopatía, neuritis retrobulbar, además se pueden presentar cambios mentales como histeria (12,23).

I.3 Distribución del metal en el organismo.

La distribución de talio se da en 3 fases en un modelo tridimensional abierto: en la primera fase (que es aproximadamente de cuatro horas), el talio se distribuye en el compartimento central, constituido de sangre, órganos y tejidos perfundidos, concentrándose en las células sanguíneas y plasma. La segunda fase que es de cuatro a cuarenta y ocho horas, comprende una lenta distribución por todo el cerebro (órgano blanco) y concentraciones menores en la sangre. Después de dos horas de distribución completa con la consecuente eliminación del talio en el cuerpo, se presenta un ciclo enteroenteral entre la absorción y la secreción, por lo tanto, el intestino se considera como el tercer compartimento (6, 20 y 23).

I.4 Concentración del metal en los tejidos

El talio produce una de las más complejas y serias toxicidades en los humanos abarcando una gran variedad de órganos y tejidos (4).

La administración crónica de talio causa un patrón similar a la distribución del metal en el organismo después de una intoxicación aguda, con una incidencia mayor en los riñones y en la médula, pero con menor concentración en otros tejidos (24, 25).

Dentro de las diferentes regiones del cerebro de rata, se encontraron las más altas concentraciones de talio en el hipotálamo y las menores en la corteza, independientemente de la dosis. En ratas jóvenes el talio se distribuye en el cerebro más rápidamente que en adultas. Esto sugiere que los jóvenes pueden desarrollar toxicidad más rápido ya que la barrera hematoencefálica está inmadura. Se ha reportado que los organismos jóvenes son más sensibles al talio que los adultos (14).

I.5 Órganos y Sistemas afectados.

Los órganos blanco de la intoxicación con talio son el Sistema Nervioso Central, el Tracto Gastrointestinal y la Piel. Sin embargo, los signos y síntomas son completamente variables abarcando muchos órganos y sistemas (23).

1.5.1 Sistema Nervioso Central: Los síntomas neurológicos aparecen usualmente a partir del segundo día después de la exposición aguda, los cuales se caracterizan por una dolorosa neuropatía periférica progresiva que domina clínicamente en la segunda o tercera semana. Disturbios sensoriales incluyendo dolor y parestesias en las extremidades inferiores, debilidad en los dedos con pérdida de sensación a pinchazos y contacto, ocasionalmente, hiperstesia comprendiendo la planta de los pies y la región tibial. La neuropatía motora es evidente por debilidad, la cual tiene una distribución distal, las extremidades corporales distales inferiores son primeramente afectados. La participación de las extremidades superiores comúnmente ocurre y la participación de los nervios craneales es rara. Puede desarrollarse insomnio, dolor de cabeza, ansiedad, temblor, ataxia, coreoatetosis y signos de participación de los nervios craneales. En el envenenamiento crónico los síntomas sobresalientes pueden ser ataxia y parestesia donde puede progresar a una neuropatía periférica con debilidad y atrofia muscular (1,3).

En casos fatales o muy serios, se observa una verdadera parálisis pseudobulbar debido a la neuritis periférica de nervios craneales, con parálisis de los músculos oculares, ptosis, parálisis facial, ambliopía y parálisis del nervio recurrente. La parálisis del nervio vago puede sobrevenir, posiblemente originando la muerte. En algunos casos, en las primeras etapas de envenenamiento el disco óptico revela el cuadro típico de neuritis, con la enfermedad definida y papilas rojas, seguido por el desarrollo de papilas pálido o blanco papillae como resultado de la atrofia del nervio óptico. En ejemplos ocasionales, la estimulación inicial de las células ganglionares del cerebro dan un ataque epiléptico, también se pueden observar convulsiones epileptiformes severas (9, 23).

1.5.2 Tracto Gastrointestinal: Después de la ingestión oral del talio, el veneno causa una reacción inflamatoria en las estructuras que estuvieron expuestas primero, resultando glositis, faringoesofagitis, gastritis, enteritis y colitis (1).

Frecuentemente se presenta náusea y vómito durante el día después de la intoxicación, el cual puede ser sustituido por dolor abdominal severo que es aliviado con presión directa. La depresión de la motilidad intestinal y peristaltis puede ocurrir debido a la posible participación del nervio vago, produciendo una constipación severa. Durante la fase de irritación de lesiones vágales, los pacientes pueden tener úlceras estomacales o duodenales. El vómito severo persistente, que es común en el envenenamiento agudo, juega un papel importante causando deficiencias que pueden ser exacerbadas por un tratamiento inadecuado. En tales casos, hay sorprendente demarcación y pérdida de fuerza que puede deberse a una inadecuada absorción de ácidos grasos y una deficiencia de vitaminas liposolubles (9,23).

1.5.3 Piel: En envenenamiento crónico aparece alopecia, la depilación comienza aproximadamente después del décimo día de la ingestión, se observa la caída completa del cabello al mes. La pérdida del cabello usualmente es reversible, pero en envenenamiento severo puede provocar alopecia permanente, la retención del tallo en los folículos pilosos se incrementa con la edad (1,7).

El depósito de tallo en muestras de cabello pueden observarse al microscopio como regiones café oscuro o pigmentación blanca próxima a las raíces después de 3-5 días de la intoxicación. También se observan efectos dermatológicos incluyendo eritema palmar, acné, anidrosis, piel seca y escamosa, lo cual es causado por el efecto tóxico del metal en glándulas sebáceas y sudoríparas. Después de 3-4 días de la intoxicación aparece distrofia de uñas, bandas semilunares blancas (Líneas de Mee). También se han observado otros síntomas como erupciones, queratinización del epitelio, equimosis y petequias (12, 23, 25).

1.6 Excreción del metal

La eliminación se efectúa por vía urinaria y por heces, el período estimado de eliminación comienza a las 24 horas después de la exposición del metal en humanos. Aproximadamente el 4% se excreta el primer día, el 36% el séptimo día y el 60% después de 28 días (9).

En ratas la proporción de eliminación fecal y urinaria es aproximadamente 2:1. Sin embargo en el humano intoxicado con la dosis letal, la proporción fué contraria a lo encontrado en ratas después del tratamiento. La excreción fecal parece disminuir significativamente por la parálisis del intestino delgado (26).

1.7 Condicionamiento Aversivo a los sabores

El condicionamiento clásico fué aplicado al estudio del aprendizaje a comienzos de siglo XX, por el fisiólogo soviético Ivan Pavlov (27). Hay conceptos que son importantes para este tipo de estudios, los cuales definimos a continuación:

Aprendizaje es el proceso de adquirir conocimientos de casi todo lo que nos rodea (28, 29).

Memoria se refiere a la retención o almacenaje de ese conocimiento a lo largo del tiempo de representaciones dependientes de la experiencia (28).

Habitación es un descenso de la respuesta a un estímulo moderado, repetitivo (28).

Para el estudio de los efectos tóxicos y conductuales de algunas sustancias se han utilizado técnicas derivadas del condicionamiento clásico, cuando un organismo prueba una solución con un sabor característico y posteriormente se le administra una sustancia tóxica que le provoca malestar gastrointestinal, se le induce una aversión hacia dicho sabor. Algunos autores como Durlach y Rescorts en 1980 y también Palmerino, Rusiniak y García en 1980 reportaron que cuando una sabor y un olor son asociados a una irritación gastrointestinal producida por cloruro de litio (LiCl) y thiner en ratas, éstas desarrollan un *condicionamiento aversivo* al sabor como también al olor (30, 31).

El aprendizaje se logra asociando estímulos del medioambiente (Estímulos condicionados) con estímulos nocivos o aversivos (Estímulos Incondicionados). Esto va determinar en gran parte la conducta de los animales (32).

Los olores son estímulos condicionados débiles, pero cuando éstos son presentados en conjunto con estímulos gustativos (olor + gusto) seguido de una irritación gástrica, entonces el olor se convierte en un estímulo condicionado fuerte (33).

García y Koelling en 1966 dieron a conocer el paradigma denominado *Condicionamiento Aversivo a los Sabores* (CAS). Este paradigma forma parte de las teorías del aprendizaje, donde el CAS se forma utilizando a los sabores como Estímulos Condicionados (EC) los cuales son efectivamente asociados con irritación gástrica usada como Estímulo Incondicionado (EI). Este tipo de condicionamiento puede ser formado después de un solo ensayo al realizar el apareamiento entre el sabor (EC) y la irritación gástrica (EI) (34).

Este paradigma fué reproducido en condiciones similares por Bernstein y cols. (1983) utilizando como (EI) una solución de cloruro de litio (LiCl) presentada durante 8 días en un microlitro por hora en promedio a través de la colocación de bombas que liberan el compuesto. En un trabajo reportado por Gustavson y cols. (1974) en el que se utilizó a un coyote como sujeto experimental, se logró que éste adquiriera una respuesta condicionada a la comida (EC) utilizando cloruro de litio (LiCl) como (EI). Este potente condicionamiento también es experimentado en pacientes que reciben medicamentos para el tratamiento de cáncer (35).

En un trabajo reportado por Peele D. y col. en 1986 utilizando el paradigma de aversión al sabor inducido por el sulfato de talio, utilizando dosis diferentes y dos rutas de administración (vía oral y vía intraperitoneal). Se encontró que hubo una selección preferencial por la vía oral, en donde se produjo una mayor aversión al sabor con la dosis más alta (36).

En un trabajo reportado por Peele D. en 1987, se utilizó el paradigma de condicionamiento aversivo al sabor inducido por la administración de acetato de plomo y sulfato de talio en combinación con dos quelantes, después de consumir sacarina en el agua de bebida. No se encontraron diferencias en la aversión condicionada al sabor en las ratas que recibieron sólo talio o las que recibieron la combinación de los quelantes; a diferencia de las ratas intoxicadas con plomo, en las cuales se observó una clara aversión al sabor, misma que disminuyó cuando se les administraron los quelantes. La sensibilidad y selectividad de cada metal en cuanto al condicionamiento aversivo al sabor quedó establecida (37).

II. HIPOTESIS

La irritación gastrointestinal producida por el consumo de agua saborizada, adicionada con acetato de talio es asociada a través de la aversión hacia dicho sabor característico, entonces el volumen de consumo de bebida con acetato de talio será menor en comparación a los controles, además este menor consumo se verá reflejado en la concentración de talio encontrada en el encéfalo.

III. OBJETIVOS

- A) Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de acetato de talio en el consumo de agua de bebida saborizada.**

- B) Correlacionar la concentración de acetato de talio en encéfalo con las diferentes dosis de tratamientos en el agua de bebida saborizada consumida.**

- C) Asociar una posible pérdida de peso de los animales con las diferentes dosis de acetato de talio utilizadas, así como también determinar la aversión en el consumo de agua de bebida saborizada.**

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

IV.1 Reactivos y Equipo: Acetato de talio, Tritón X-100 (Sigma Chemical Co. St. Louis MO, E.U.), ácido nítrico suprapur, fosfato de amonio secundario (Merck, México). Agua desionizada (Milli R/Q, Millipore). Jarabe de uva al 15% marca Tucan (México).

Espectrofotómetro de absorción atómica 360 de la marca Perkin- Elmer, con horno de grafito HGA-3110 con automuestreador utilizando una lámpara de descarga sin electrodos de talio para la detección del metal. Balanza analítica Bosch modelo S-2000. Balanza granitaria Sartorius tipo 1474. Agitador tipo Vortex. Parrilla con agitación magnética. Micropipetas de volúmenes variables.

IV. 2 Animales: 32 ratas de la cepa Wistar macho con un peso de 200 a 250g los cuales se distribuyeron al azar en 4 grupos experimentales con 8 animales cada uno.

IV.3 Grupos experimentales: Grupo I. Control; Grupo II. Tratados con 10 ppm de acetato de talio (6.24 mg/500 ml); Grupo III. Tratados con 20 ppm de acetato de talio (12.9 mg/500 ml) y Grupo IV. Tratados con 40 ppm de acetato de talio (25.8 mg/500 ml).

IV.4 Alojamiento de los animales: estuvieron en un bioterio de tipo convencional, alojados en cajas individuales de policarbonato con las siguientes medidas: 27cm de ancho x 37cm de largo x 14.5cm altura. Los animales tuvieron libre acceso al alimento (Harlan Teklad, Bioterio México) y acceso controlado al agua de acuerdo a la metodología.

IV.5 Metodología: los animales se sometieron a un período de habituación de 7 días, en donde cada rata tuvo acceso a dos bebederos: uno con agua potable y el otro con agua saborizada de

jarabe de uva al 15%, sin acetato de talio. Cada 24 hrs tuvieron acceso durante 15 minutos a ambos bebederos, registrando el consumo de ambos líquidos. Terminado el período de habituación se continuo con el período de condicionamiento de aversión al sabor. Cada rata tenía acceso a dos bebederos uno con agua potable y otro con agua saborizada adicionada con acetato de talio en la concentración correspondiente dejando que las ratas tengan libre acceso a los bebederos sólo por 15 minutos cada 24 hrs. Diariamente se midió el consumo de los dos líquidos. Se llevó un control de peso de los animales, el cual se realizó al inicio del período de habituación, al final del mismo, y al termino del período de condicionamiento.

IV.6 Sacrificio de los animales y análisis de muestras: después del tratamiento los animales se sacrificaron por decapitación y su encéfalo se procesó para cuantificar la concentración de talio. El encéfalo se colocó en tubos de polipropileno y se peso. Se le agrego 2 ml de ácido nítrico (HNO_3) suprapur Merck concentrado para digerir el tejido. Las muestras se colocaron en baño maría con agitación durante 30 minutos a 60°C . Una vez digeridas las muestras se tomaron alícuotas de $50 \mu\text{l}$ y se hicieron diluciones (1:20, v/v.) con una solución modificadora de matriz para aumentar la estabilidad térmica del talio. De cada dilución, se inyectaron $20 \mu\text{l}$ en el espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito, siguiendo la técnica montada en el laboratorio (37).

Para el Análisis Estadístico de los resultados se realizó una prueba de ANOVA factorial y se comparó el volumen de agua saborizada con las diferentes concentraciones de talio con la cuantificación del metal en el encéfalo (38).

V. RESULTADOS

En la Figura 1. se presenta el consumo de agua potable y de agua saborizada sin talio (Grupo I), tanto en el período de habituación como en el período de condicionamiento aversivo al sabor. Durante el período de habituación (primeros 7 días), el promedio de consumo de agua potable fué 17.62 ml y el de agua saborizada fué de 12.57 ml. Los siguientes 7 días (período de condicionamiento), hubo un aumento en el consumo de líquidos, ya que el promedio de consumo de agua potable fué 22.62 ml y de agua saborizada fué de 20.62 ml. Encontramos diferencias significativas en el consumo en el día 2 (* $p < 0.05$), así como en los días 3, 7, 8, 9, 13 y 14 (** $p < 0.01$).

En la Figura 2. se presenta el consumo de agua potable y de agua saborizada con talio (Grupo II). Durante el período de habituación (primeros 7 días), el promedio de consumo de agua potable fué 18.35 ml y el de agua saborizada fué de 12.69 ml. Los siguientes 7 días (período de condicionamiento), hubo una disminución tanto en el consumo de agua potable (10.46 ml) , como de agua saborizada (con 10 ppm de talio) que fué de 7.96 ml. Sólo encontramos diferencias estadísticamente significativas en el día 7 (** $p < 0.01$).

En la figura 3. se presenta el consumo de agua potable y de agua saborizada con talio (Grupo III). Durante el período de habituación (primeros 7 días), el promedio de consumo de agua potable fué 22.30 ml y de agua saborizada fué 16.15 ml. Los siguientes 7 días (período de condicionamiento), el promedio de agua potable fué de 11.74 ml y de agua saborizada (con 20 ppm de talio) fué de 6.27 ml. Aquí encontramos diferencias significativas en el día 5, 6, 11 y 12 (* $p < 0.05$) y en los días 7 y 13 (** $p < 0.01$).

En la Figura 4. se presenta el consumo de agua potable y de agua saborizada con talio (Grupo IV). Durante el período de habituación (primeros 7 días), el promedio de consumo de agua potable fué de 20.73ml y de agua saborizada 11.44 ml. Los siguientes 7 días (período de condicionamiento), el promedio de agua potable fué de 9.04 ml y de agua saborizada (con 40 ppm de talio) fué de 5.19 ml. En este grupo encontramos diferencias estadísticas los días 1, 2, 3, 4, 5 y 7 (** $p < 0.01$).

En la Figura 5. Se compara el consumo promedio de agua potable y de agua saborizada de los grupos experimentales (control y tratados con diferentes concentraciones de talio), observándose un menor consumo de ambos líquidos en los grupos con talio. Al comparar el consumo de cada grupo no se encontraron diferencias significativas en el consumo de agua potable y de agua saborizada. Al comparar el consumo de agua potable del grupo control con el consumo de agua potable de los grupos tratados encontramos una diferencia estadísticamente significativa (* $p < 0.05$), pero no encontramos cambios importantes entre los grupos tratados. Con respecto al agua saborizada, también hubo diferencias significativas entre el consumo del grupo control con respecto a los grupos tratados (** $p < 0.01$), por otro lado, entre los grupos tratados no se observaron diferencias.

En la Figura 6. Se muestran los resultados de las concentraciones de talio en el encéfalo de rata. En el caso del grupo control, no se encontraron cantidades analizables del metal, pero en los grupos tratados se obtuvieron concentraciones en el tejido que comportan de manera dosis-dependiente, a menor concentración en el agua saborizada menor concentración en el encéfalo y correspondientemente, a una concentración mayor en el agua saborizada, mayor concentración en el encéfalo. Se encontraron diferencias significativas entre 10 ppm y 20 ppm (* $p < 0.05$) y entre

10 ppm y 40 ppm (** $p < 0.01$). No se observaron diferencias entre 20 y 40 ppm

En la Figura 7. Se comparan los pesos de los animales de los diferentes grupos experimentales a lo largo del estudio. Se pesaron en tres ocasiones: D1, D7 y D14, no encontramos diferencias en cuanto al peso durante los períodos de habituación y de condicionamiento.

En la Figura 8. Se representa la relación entre el consumo de agua saborizada y la concentración de talio encontrada en el encéfalo de las ratas en los diferentes grupos. Se encontró una relación inversamente proporcional entre estas dos variables, es decir, la mayor concentración de talio en el encéfalo la encontramos en el grupo que tuvo menor consumo de agua saborizada con talio y que correspondía al de mayor concentración (Grupo tratado IV- 40 ppm).

En la Figura 9. Se analizan de manera conjunta los resultados del consumo de agua saborizada con talio (ml) de los diferentes grupos de animales experimentales, de la concentración del metal en el encéfalo de las ratas ($\mu\text{g/g}$ de tejido fresco) y la concentración del mismo en el agua saborizada (ppm). Como se había mencionado en la Figura 6, existe una relación directamente proporcional entre la concentración del talio en el agua saborizada y la concentración del metal cuantificada en el encéfalo (representada con triángulos), mientras que la relación entre el consumo de agua saborizada y la concentración del metal en el agua saborizada guarda una relación inversamente proporcional (representada con cuadros), tal como se presentó previamente en la Figura 8.

IV. DISCUSION

Cuando un organismo prueba una solución con un sabor característico y posteriormente se le administra una substancia que le provoca malestar gastrointestinal, pruebas subsecuentes muestran una notable desarrollo de aversión hacia dicho sabor conocido como *aversión condicionada al sabor* (30).

Algunos autores han reportado que cuando un olor y un sabor son apareados a un malestar producido por LiCl en ratas, éstas desarrollan una aversión condicionada tanto al olor como al sabor; sin embargo, la aversión al olor es mayor que la del sabor, cuando el estímulo olfativo como el gustativo son presentados simultáneamente. Por otro lado, cuando el sabor y el olor son apareados por separado al malestar, la aversión al sabor es mayor que al olor (31).

En un trabajo realizado por Peele y colaboradores en 1986 se reportaron efectos sobre el condicionamiento aversivo al sabor con el sulfato de talio, utilizando dos vías de administración (vía intraperitoneal y vía oral). En la vía intraperitoneal no se presentó aversión al sabor, mientras que la selección preferencial fué la vía oral y esto produjo aversión al sabor. En este trabajo se confirmó que la vía oral es la más adecuada para la utilización del paradigma del condicionamiento aversivo al sabor (35).

En nuestro trabajo se utilizó el paradigma del *Condicionamiento Aversivo a los Sabores*, donde se relaciona un sabor característico con malestar gastrointestinal en el animal experimental. En nuestro caso, le adicionamos al agua de bebida jarabe sabor uva y acetato de talio, con la finalidad de provocar aversión a dicho sabor. Se emplearon los siguientes tratamientos: 10ppm, 20ppm y 40ppm de talio en el agua saborizada, llevándose el registro del consumo tanto de agua saborizada como de agua potable para evaluar al final del experimento la concentración de talio

en el encéfalo de rata en relación a la cantidad de agua saborizada consumida por cada animal.

Se presentaron signos el día 3 de tratamiento con las concentraciones 20ppm y 40ppm, observándose una disminución en el consumo de líquidos. Algunas ratas presentaron alopecia, problemas digestivos como diarrea, dolor abdominal, pelo erizado, debilidad al caminar. No se observó en ningún grupo pérdida significativa de peso corporal (Figura 7).

Se encontraron algunas diferencias significativas al comparar el consumo de agua potable y agua saborizada en el grupo control a lo largo del experimento, como se observó en la Figura 1, siendo el consumo general de 10 a 20ml. Para el caso del grupo II, sólo se encontró una diferencia significativa en el día 7 al comparar ambos líquidos (Figura 2), pero aquí sí se presentó una disminución en el consumo general de líquidos pasando de 10-20ml a 5-10 ml. En la Figura 3, también encontramos diferencias significativas en el consumo de agua potable y agua saborizada, así como una disminución entre 3-11 ml en el consumo general de líquidos del grupo III. En la Figura 4 (grupo IV) si se presentaron diferencias significativas al comparar el consumo de ambos líquidos, siendo el consumo inicial de 10-20 ml y el final de 3-7 ml.

Nuestro estudio mostró cambios en el consumo de líquidos en los grupos tratados con talio cuando se comparan contra el grupo control, con significancia estadística (Figura 5), pero cuando se compararon los diferentes grupos tratados entre sí no fueron significativos. Este comportamiento fue igual para el agua potable como para el agua saborizada.

En este trabajo también se cuantificó la concentración de talio en el encéfalo de las ratas tratadas (Figura 6), habiendo una mayor concentración en el grupo IV (tratado con 40 ppm de talio), presentándose un comportamiento concentración-dependiente.

Comparamos los resultados del consumo de agua saborizada tanto en el grupo control como en el de los tratados, encontrando mayor consumo de agua saborizada el el grupo control. Sin embargo podemos decir que se observó una mayor concentración de talio en el encéfalo en la dosis 40ppm, que fué donde hubo un menor consumo de agua saborizada con talio (Figura 8).

En este trabajo se trato de evaluar el condicionamiento aversivo al sabor empleando diferentes concentraciones de talio en el agua saborizada, en base a los resultado, se observó que las ratas no pudieron identificar claramente la substancia que les provocaba malestar, ya que hubo una disminución en el consumo tanto de agua potable como de agua saborizada. Se puede suponer que si hubo un aprendizaje aversivo parcial por parte de las ratas tratadas con talio, debido a que disminuyo su consumo de líquidos, pero él malestar no lo relacionaron al sabor. Pudiera ser que para que se presentará el condicionamiento aversivo al sabor, necesitamos dejar más tiempo en tratamiento a los animales o bien aumentar las concentraciones del metal en el agua saborizada, tomando precauciones ya que éstas pueden provocar mortalidad en los animales.

VII. CONCLUSIONES

- En relación al condicionamiento aversivo al sabor; observamos que la rata no aprendió a distinguir la sustancia que le provocaba daño, ya que disminuyó el consumo de ambos líquidos, no exclusivamente el del agua saborizada.
- Se observó un menor consumo de agua saborizada con talio en la concentración de 40 ppm comparándolo con los otros grupos tratados.
- A pesar de que hubo un menor consumo de agua saborizada con talio en el grupo IV se cuantificó una mayor concentración de talio en el encéfalo de rata comparándolo con los otros tratamientos.
- Se presentó una relación concentración-dependiente al analizar el consumo de agua saborizada con talio y la concentración del metal en el encéfalo de rata.
- No se encontró ninguna diferencia en cuanto al peso corporal de los animales de experimentación por efecto de los tratamientos.
- Para poder clarificar el efecto aversivo al sabor producido por talio, se necesitaría ampliar el tiempo de tratamiento o aumentar las concentraciones empleadas.

VIII. LITERATURA CITADA

- 1.- Pirck, J. J. Thallium Poisoning, Handbook of Clinical Neurology: Intoxication of the Nervous System. North-Holand, New York. 1979; 36: 239-278.
- 2.- Rangel-Guerra, R. Martinez, H.R., Villarreal, H. J. Intoxicación por talio, experiencia con 50 pacientes. Gaceta Médica Mexicana. 1990; 126 (6): 487-495.
- 3.- Mulkey, P. J., Oehme W. F, A Review of Thallium Toxicity. Vet. Human. Toxicol. 1993; 35 (5): 445-453.
- 4.- Nriagu, J. O. History, production and uses of thallium. In. Thallium in the Enviroment. Advances in Enviromental Science and Technology. John Wiley & Sons Inc., U. S. A. 1998; 1-29.
- 5.- Montoya Cabrera, M.A., López Martín, Gabriel., García Reynoso, Manuel. Intoxicación por talio. Revista Médica. IMSS (Méx). 1986; 23: 65-70.
- 6.- Aoyama, H., Yoshida, M., Yamamura, Y. Acute poisoning by intentional ingestion of thallos malonate. Human toxicol. 1986; 5: 389- 392.
- 7.- Brockhaus, A., Dolger, R., Ewers, U., Krömer, U., Soddeman. H., Wiegand, H. Intake and health effects of thallium among a population living in the vicinity of a cement plant emitting thallium-containing dust. Int. Arch. Occup. Environ Health. 1981; 48: 375-389.
- 8.- Liem, Y., Kaiser, G., Sager, M., et al. The determination of thallium in rocks and biological materials at ng/g levels by differential-pulse anodic stripping voltammetry and electrothermal

atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem. Acta.* 1984; 158:179-197.

9.- Galván-Arzate, S. y Santamaría, A. Thallium toxicity. *Toxicol. Lett.* 1998; 99: 1-13.

10.- Questel, F., Dugarin, J., Dally, S. Thallium-contaminated heroin (letter). *Ann. Intern. Med.* 1996; 124: 616.

11.- Schamburg, H. H., Berger, A. Alopecia and sensory polineuropathy from thallium in a Chinese herbal medication (letter). *JAMA.* 1992; 268: 2430-2431.

12.- Moeschlin, S. Thallium poisoning. *Clin. Toxicol.* 1980; 17 (1): 133-146.

13.- Humphreys, D. J. *The Royal Veterinary. University of London.* Bailliere Tindall 3rd edition. 1988; 73-74.

14.- Ríos, C., Galván-Arzate, S., Tapia, R. Brain regional thallium distribution in rats acutely intoxicated with Tl_2SO_4 . *Arch. Toxicol.* 1989; 63: 34-37.

15.- Davis, I. E., Standefer, J.C., Kornfeld, M., Abercrombie, D.M., Butler, C. Acute thallium poisoning: toxicological and morphological studies of the nervous system. *Ann Neurol.* 1981; 10: 38-44.

16.- Sabbioni, E., Ceotz, L., Bignoli, G. Health and enviromental implications of trace metals relased from coal-fired power plants: An assessment study of situation in the European Community. *Sci. Total Environ.* 1984; 40:141-154.

17.- Martínez Hernández Argelia. Cuantificación de la concentración de talio y de la peroxidación de lípidos en regiones cerebrales de rata después de su adminitración crónica. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. , 2000: 16-19, 27.

18.- Cavanagh, J. B. What have learn from Grahm Frederic Young? Reflections on the

Acta Pharmacol. Toxicol. 1956; 12: 260-268.

20.- Rauws, A. G. Thallium pharmacokinetics and its modification by prussian blue. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1974; 285:516-522.

21.- Munch, J.C. Human thalotoxicosis. *JAMA.* 1934; 102:1929-1934.

22.- Grunfel, O., Hinostriza, G. Thallium poisoning. *Arch. Intern. Med.* 1964; 114: 132-134.

23.- Repetto, G., Del Peso, A., Repetto, M. Human thallium toxicity. In: *Thallium in the environment. Advances in Environmental Science and Technology.* John Wiley & Sons Inc., U. S. A. 1998; 167- 199.

24.- Smith, D.H., Doherty, R. A. Thalotoxicosis. Report of three cases in Massachusettes. *Pediatric.* 1964; 34: 480-490.

25.- Cavanagh, J. B., Fuller, N. H., Johnson, H. R. M., Rudge, P. The effects of thallium salts, with particular reference to the nervous system changes. *Quart. J. of Med.* 1974; 43: 293-319.

26.- Buck, W.B., Osweiler, G.D. Clinical and diagnostic. *Veterinary Toxicology.* Second ed. 1976; 249-251.

27.- Dudai, Y. The neurology of memory: Concepts, Finding, Trends. New York, U.S.A. Oxford University Press. 1989: 19-33.

28.- Kandel, E. R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M.. *Neurociencia y conducta.* Madrid. 1997: 671-715.

29.- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. *Principles of Neural Science.* Appleton & Lange. Third Edition 1991: 997-1008.

30.- Miranda, F., Arzate, R. y Vila J. Propiedades de estímulo aversivo del tiner, un solvente industrial. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta.* 1982; 8(2): 121-126.

- 31.- Vila, J., Colotla, V. A., Miranda, F., Arzate, R. Asociaciones intra-señal en la aversión condicionada al tiner. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*. 1982; 8(1): 57-62.
- 32.- García, J., Rusiniack, K.W, Klefer, S. W., Bermúdez-Rattoni, F. The neural integration of feeding and drinking habits. In: Woody, C.D. Eds. *Conditioning*. Plenum Press, New York; 1982: 567- 579.
- 33.- Rusiniack, K. W., Hankins, W. G., García, J., Brett, L. P. Flavor aversions. Potentiation of odor by taste in rats . *Behavioral Neural Biology* 1979; 25: 1-17.
- 34.- García, J., Koelling, R.A. Relation of the cueto consequence in avoidance learning. *Psychonomic Science*. 1966; 4: 123-124.
- 35.- Rusiniack, K.W., García J. Flavor aversion of odor by taste of feeding and drinking habits. *Behavioral Neural Biology*. 1980; 25 (4): 4-17.
- 35.- Peele, D. B., MacPhail, R. C., Farmer J. D. Flavor Aversions Induced by Thallium Sulfate: Importance of Route of Administration. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*. 1986; 8: 273-277.
- 36.- Peele, D. B., Farmer, J. D., MacPhail, R. C. Conditioned Flavor Aversions: Application in Assessing the Efficacy of Chelators in the Treatment of Heavy- Metal Intoxication. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1987; 88: 397-410.
- 37.- Ríos, C., Galván-Arzate, S. Analysis of thallium in biological samples. In: Nriagu, J. (Ed). *Thallium in the Enviroment*. Advances in Enviromental Science and Technology. John Wiley & Sons Inc., U.S.A. 1998: 155-166.
- 38.- Steel, R.G.D., Torrie, H. H. *Principles and Procedures of Statistics*. McGraw-Hill, New York. 1980.

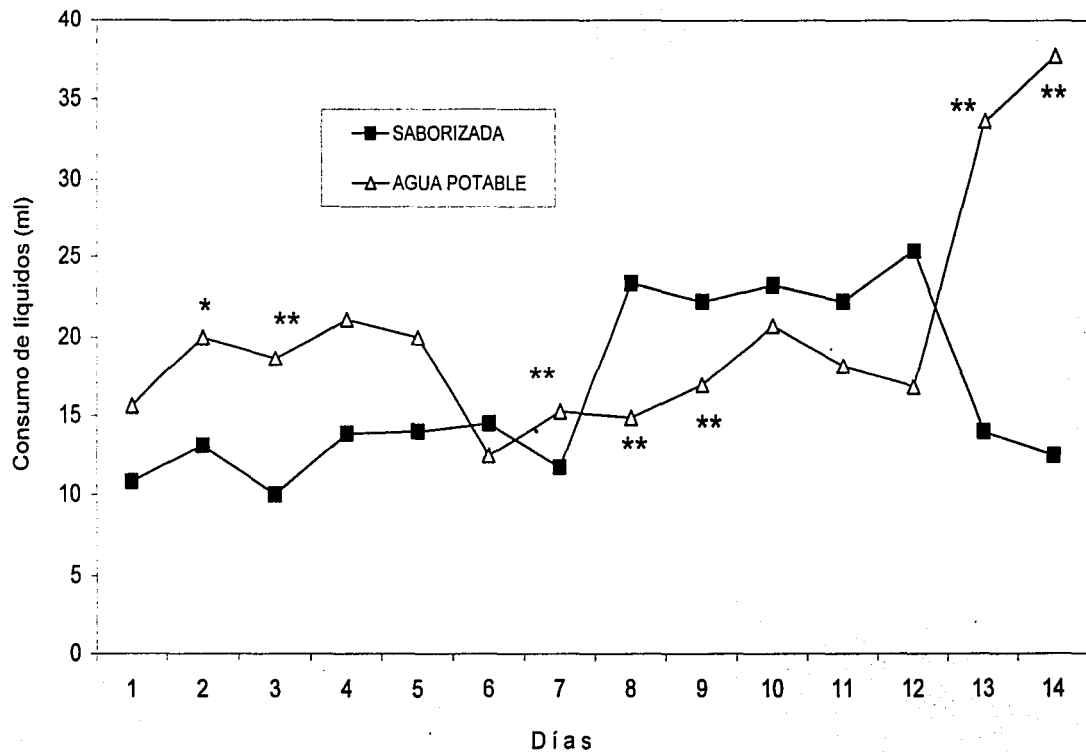


FIGURA 1. Consumo de líquidos del Grupo I Control durante la primera semana (período de habituación de 7 días) y en la segunda semana (período de condicionamiento de 7 días) sin talio. (* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$)

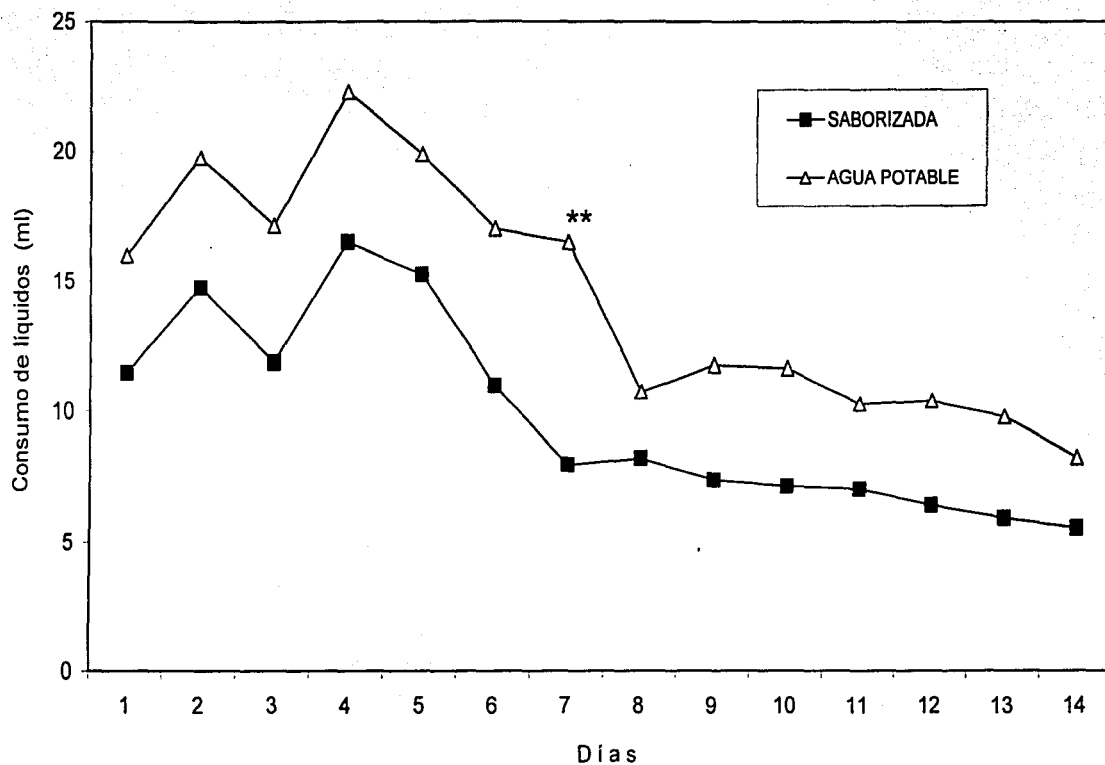


FIGURA 2. Consumo de líquidos del Grupo II durante la primera semana (período de habituación de 7 días) y en la segunda semana (período de condicionamiento de 7 días), con 10 ppm de talio en el agua saborizada. (** $p < 0.01$)

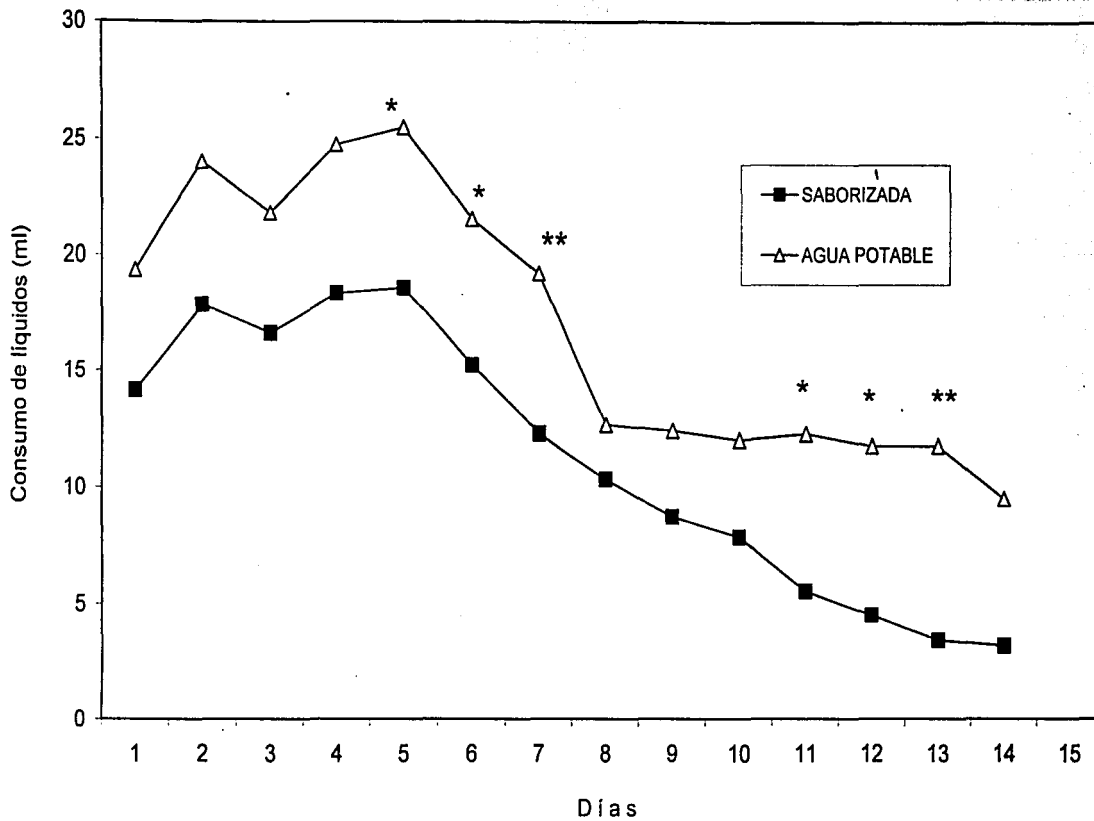


FIGURA 3. Consumo de líquidos del Grupo III durante la primera semana (período habituación de 7 días) y segunda semana (período de condicionamiento de 7 días), con 20 ppm de talio en el agua saborizada. (* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$)

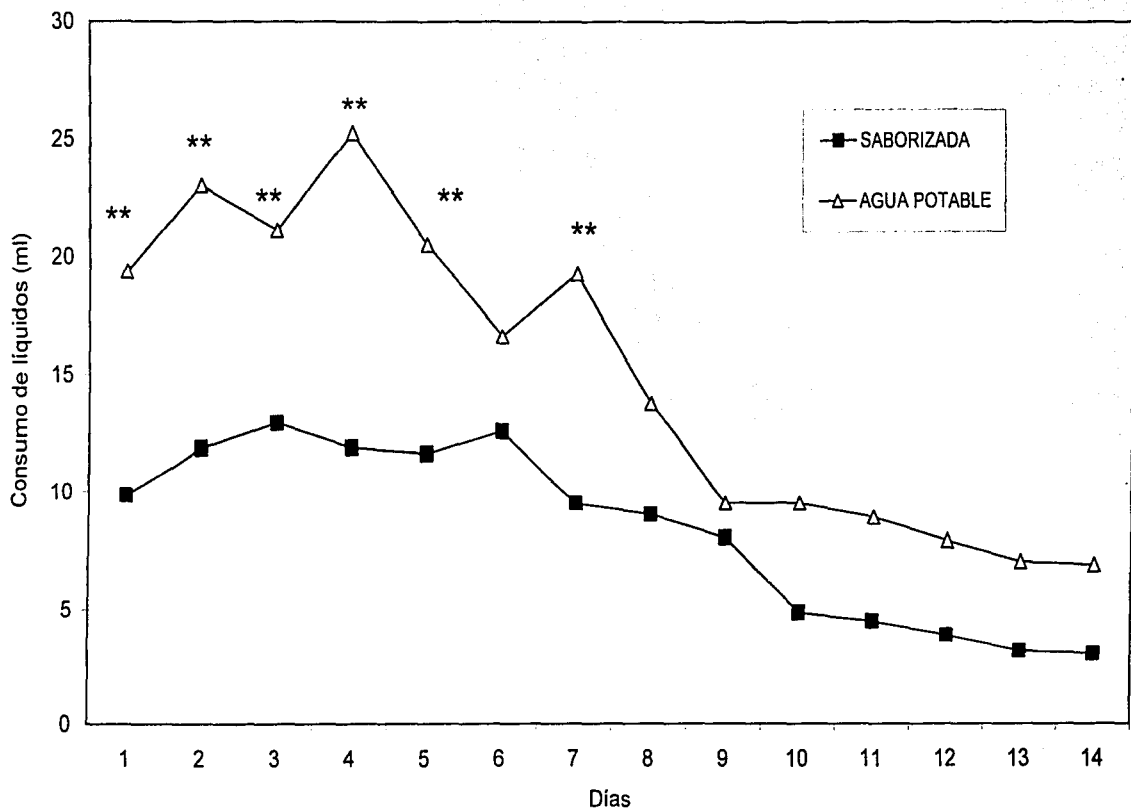


FIGURA 4. Consumo de líquidos del Grupo VI durante la primera semana (período de habituación de 7 días) y en la segunda semana (período de condicionamiento de 7 días), con 40 ppm de talio en el agua saborizada. (**p<0.01)

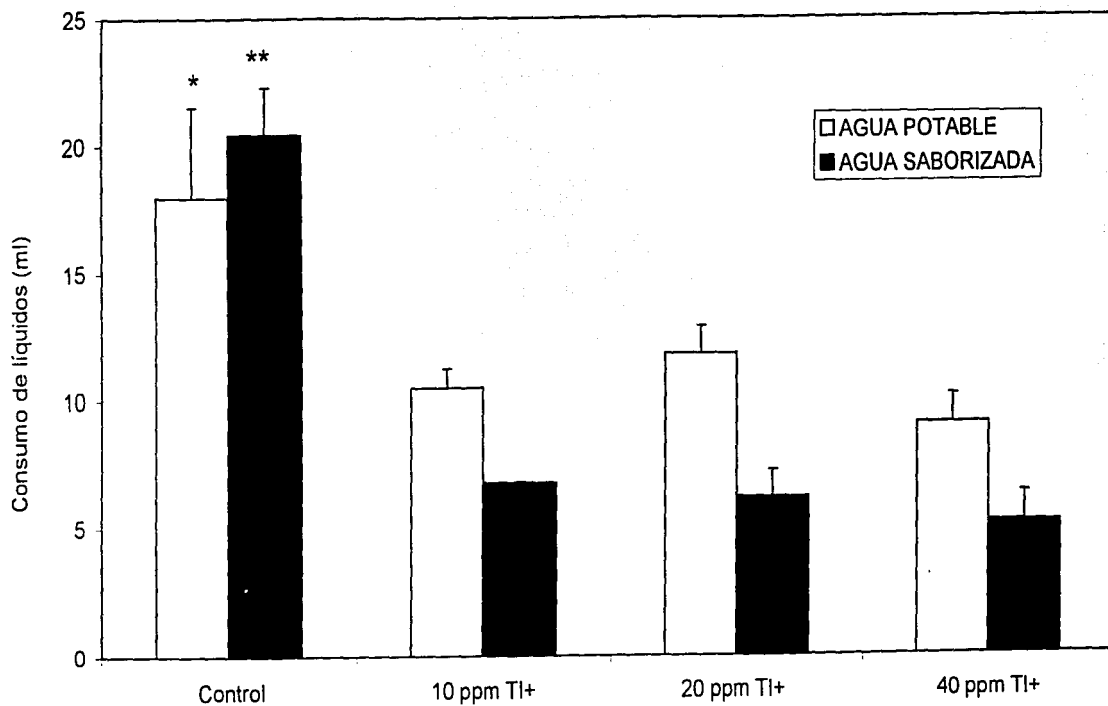


FIGURA 5. Consumo promedio de líquidos (agua potable y saborizada) durante el período de condicionamiento en los diferentes grupos.
 (* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$), TI+: talio.

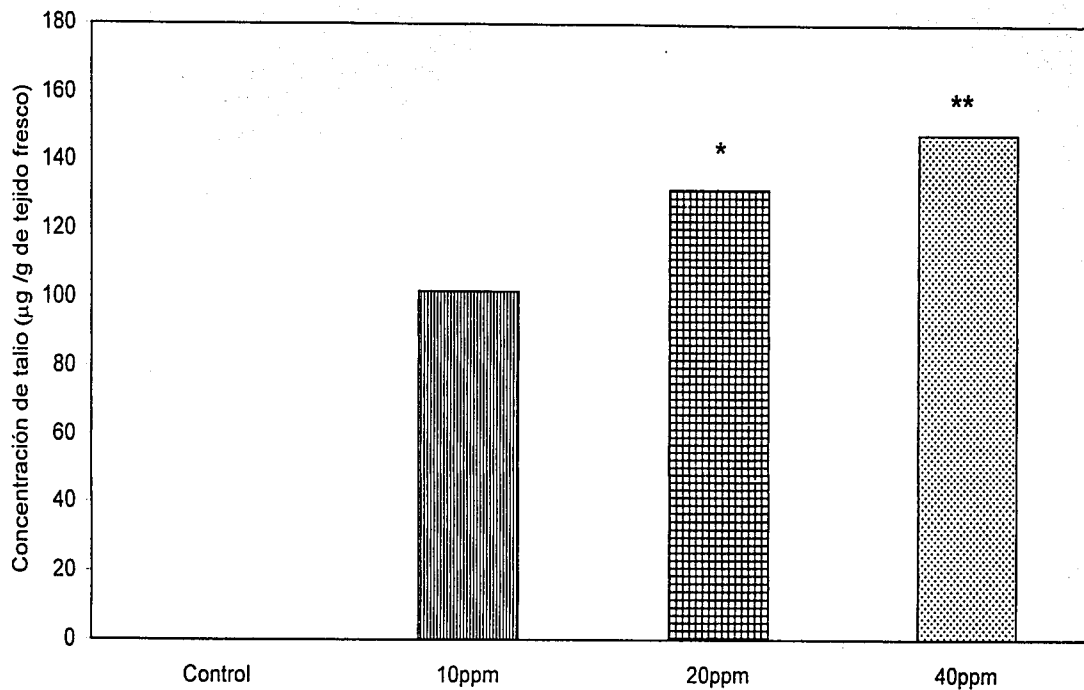


FIGURA 6. Concentración de talio en encéfalo de ratas en los diferentes grupos (* $p < 0.05$) entre 10 y 20ppm; (** $p < 0.01$) entre 10 y 40 ppm.

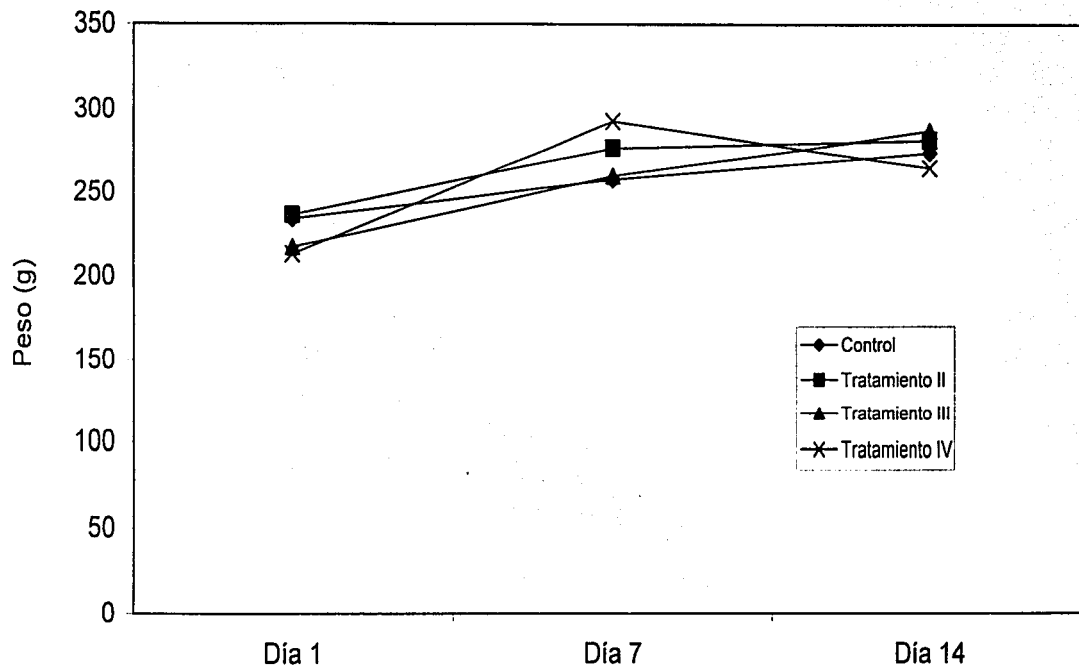


FIGURA 7. Promedio del peso de las ratas durante el tratamiento.

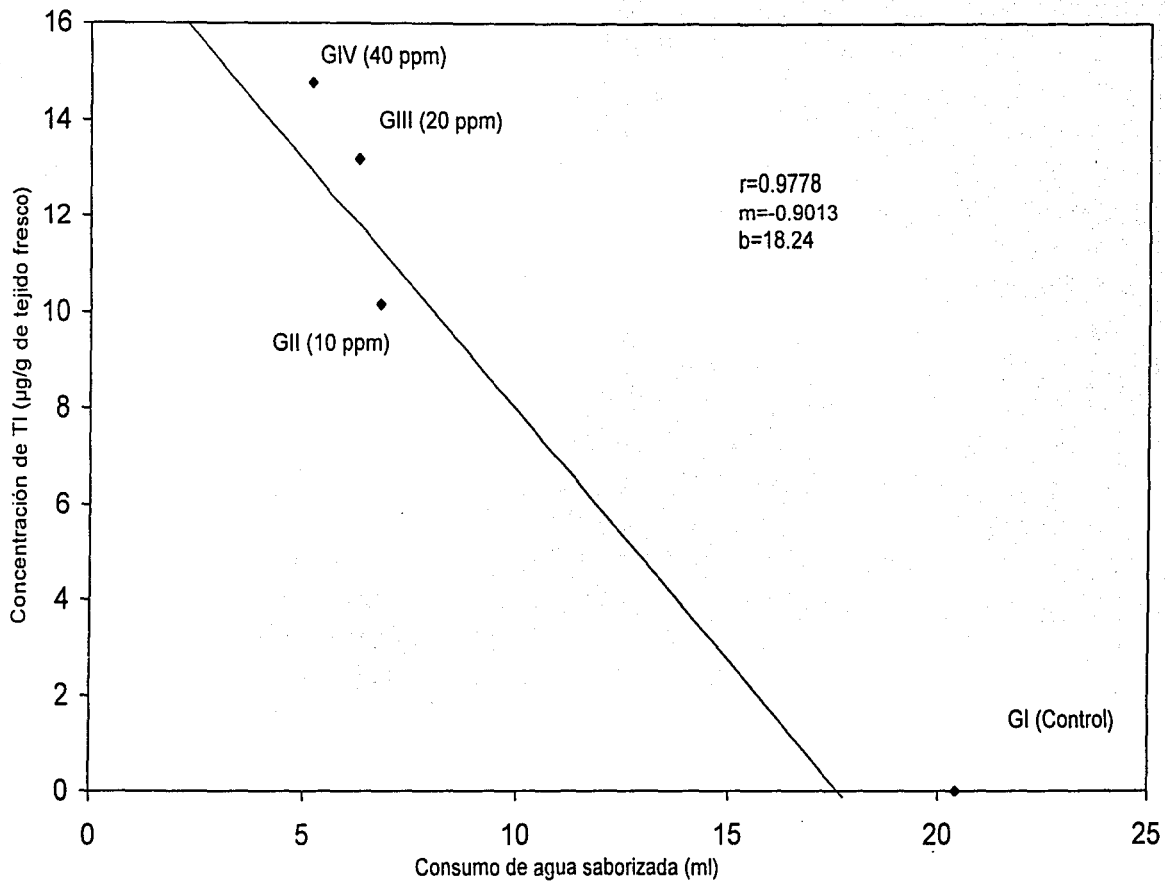


FIGURA 8. Relación entre el consumo de agua saborizada y la concentración de talio en el encéfalo de rata.

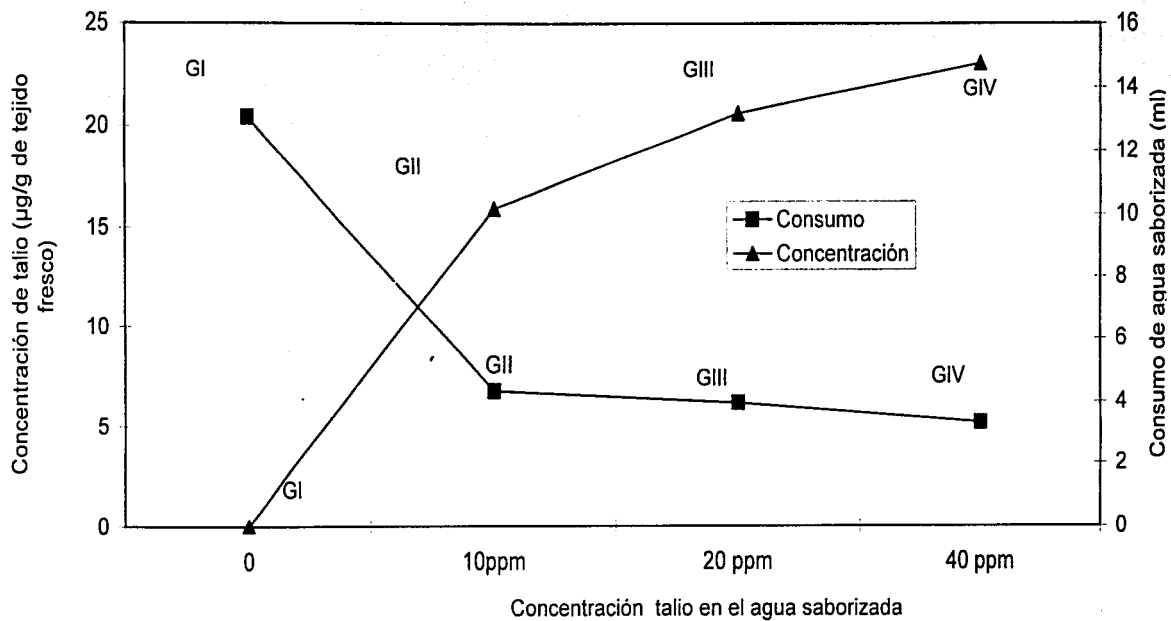


FIGURA 9. Relación entre la concentración de talio en el agua saborizada, la concentración de talio en el encéfalo de rata, y el volumen consumido de agua saborizada en los diferentes grupos.