

01965



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE PSICOLOGIA

3

**"EFECTO DE LAS SALES DE PLOMO
SOBRE EL APRENDIZAJE Y MEMORIA. ESTUDIO
EXPERIMENTAL EN RATAS (*Rattus norvégicus*)"**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRA
EN PSICOBIOLOGÍA
PRESENTA:
ADRIANA SILVA RODRÍGUEZ

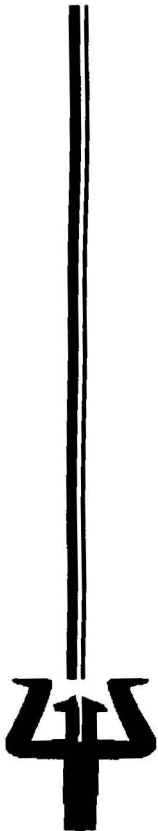
DIRECTOR DE TESIS
DR. ALFONSO ESCOBAR IZQUIERDO

SINODALES
DR. DAVID N. VELAZQUEZ MARTÍNEZ
MTRO. GUSTAVO BACHÁ MENDEZ
MTRO. FERNANDO VÁZQUEZ PINEDA
DR. FEDERICO BERMUDEZ RATTONI

México, D.F.

Noviembre de 2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A Audrey

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

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

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

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

A los sinodales Dr. David Velásquez Martínez, Mtro. Gustavo Bacha Mendez, Mtro. Fernando Vázquez Pineda y Dr. Federico Bermúdez Rattóni por sus valiosos comentarios y sugerencias para mejorar este trabajo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE

Indice	4
Resumen	5
Introducción	
Contaminación por plomo	6
Plomo: el metal	7
Intoxicación por plomo: el organismo en general	7
Intoxicación por plomo: Sistema Nervioso Central	8
Efectos en la neurogénesis	9
Efectos neuroanatómicos	10
Efectos neurofarmacológicos	13
Efectos bioquímicos	14
Efectos conductuales	15
Aprendizaje y memoria	16
Método	
Planteamiento y justificación del problema	19
Objetivo	19
Hipótesis	19
Variables	19
Sujetos	20
Muestreo	21
Tipo de estudio	21
Diseño	21
Instrumentos y materiales	21
Procedimiento	22
Análisis estadístico de resultados	23
Resultados	25
Laberinto de Barnes	26
Laberinto de agua	29
Estudio histológico	30
Discusión	37
Conclusiones	42
Perspectivas del estudio	43
Referencias	44

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

RESUMEN

El **plomo** (Pb) es un metal tóxico que interfiere con el desarrollo y crecimiento normal del sistema nervioso y provoca disfunción cerebral que se manifiesta como desórdenes de conducta y déficits en los procesos de aprendizaje y memoria. En el presente trabajo se plantea el estudio en un modelo experimental en rata del efecto de la intoxicación crónica con Pb sobre la ejecución de dos laberintos que involucraron discriminación de estímulos y claves de tipo espacial, también se realizó el estudio histológico descriptivo del Sistema Nervioso Central (SNC).

Se utilizaron 20 ratas Wistar de ambos sexos cuyas madres ingirieron agua *ad libitum* con acetato de Pb al 1% durante y después del embarazo (25 días después de nacidas las crías), una vez destetadas continuaron tomando agua con acetato de Pb al 1%; 20 ratas no intoxicadas fueron utilizadas como grupo control. Las ratas a los 20 días de edad se entrenaron en el laberinto de Barnes para localizar un compartimento (30x25x20 cm) colocado debajo de uno de los 16 orificios (5 cm diámetro) de una superficie circular de 150 cm de diámetro colocada a 100 cm de altura. El tiempo promedio que tardaron las ratas intoxicadas con Pb en ejecutar el test (\bar{x} = 75.46 \pm 50.43 seg) fue significativamente mayor (*t Student* = -2.959; $p < 0.0058$) que el que tardaron las ratas del grupo control (\bar{x} =32.46 \pm 32.34 seg).

Las ratas también fueron entrenadas para localizar la salida a la derecha o a la izquierda de un recipiente con agua al discriminar la presencia o ausencia de un estímulo luminoso. El tiempo promedio para ejecutar la prueba no fue diferente entre ambos grupos (p (*t*=-1.285)= 0.201); sin embargo, la ejecución de las ratas del grupo experimental (17.35 \pm 4.39 errores) fue más pobre (p (*t*= -4.798)=0.000) comparada con el grupo control (12.45 \pm 6.57 errores); resultados que se obtienen al comparar el número de veces que los sujetos escogían el carril equivocado para salir del laberinto, lo que indica que las ratas intoxicadas con Pb cometieron más errores al ejecutar la prueba.

Las ratas fueron sacrificadas y perfundidas para realizar tinciones histológicas con su tejido cerebral y ser analizado descriptiva y comparativamente. Las ratas intoxicadas con Pb mostraron retraso en el desarrollo y la migración neuronal, disminución del número de neuronas, así como también de ramificaciones y espinas dendríticas. Estas alteraciones se observaron principalmente en la neocorteza, el hipocampo y la corteza cerebelosa.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONTAMINACION POR PLOMO

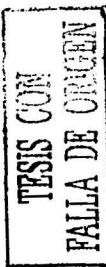
El Valle de México abarca 9600 Km² en donde se localiza una de las metrópolis con mayor crecimiento demográfico en el Mundo y también de las más contaminadas: la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) (Quadri y Sánchez, 1992; Lacy, 1993).

Los grandes avances científicos y tecnológicos en todos los campos del saber se han traducido en una gran cantidad de inventos que han hecho posible que se mejoren las condiciones de vida de la humanidad. Pero este avance también ha traído como consecuencia el deterioro ambiental. Los objetos y materiales que alteran las condiciones naturales del ambiente son los contaminantes y la contaminación es la degradación del ambiente producida por desechos humanos (Strauss y Mainwaring, 1990; Quadri y Sánchez, 1992).

La contaminación atmosférica es uno de los grandes problemas que enfrenta actualmente la ZMCM en parte por ser una gran concentración urbana y en parte por las características naturales del Valle de México, cuenca lacustre naturalmente cerrada por grandes cadenas montañosas de origen volcánico, que favorecen la presencia del fenómeno de inversión térmica que ocurre cuando el aire caliente se sitúa encima del aire frío y elimina casi por completo las corrientes de aire con lo cual los humos contaminantes permanecen en la atmósfera durante mucho tiempo y aumentan las concentraciones de smog el cuál se forma por reacciones fotoquímicas entre los gases de la atmósfera, las impurezas del ambiente y la acción de la luz solar. Otras formas de contaminación que también padece nuestra ciudad son: la del agua, el ruido y la acumulación de desperdicios -contaminación del suelo- (Quadri y Sánchez, 1992; Finkelman, 1996).

Las autoridades de la ZMCM han diseñado programas para tratar de controlar los principales contaminantes atmosféricos: sustitución (parcial) de combustóleo por gas natural en termoeléctricas, clausura y re-localización de industrias altamente contaminantes, Programa de Verificación Obligatoria de Vehículos Automotores, reducción de plomo en las gasolinas y el programa "Hoy no circula", son algunos ejemplos. Sin embargo, estas medidas no han sido suficientes tal como lo indican las calificaciones del Índice Metropolitano de la Calidad del Aire (IMECA), que emite diariamente la SEDESOL con base en la información generada por la Red Automática de Monitoreo Atmosférico. El índice IMECA describe numéricamente los niveles de contaminación por medio de un puntaje que varía desde 0 hasta 500 y donde el nivel de 100 unidades marca la concentración máxima tolerable arriba de la cuál comienza a haber un riesgo para la salud. En la ZMCM los IMECA con mucha frecuencia oscilan entre 100 y 200 puntos lo que indica que el ambiente "No es satisfactorio" (Lacy, 1993).

El principal problema de contaminación atmosférica lo constituyen las altas concentraciones de ozono y partículas suspendidas, el plomo (Pb) es un constituyente de estas últimas. Su principal fuente de emisión son los automóviles, las fundidoras de metales no ferrosos y la fabricación de acumuladores. Es



importante destacar que la concentración de Pb en el aire disminuyó significativamente gracias a la reducción de tetraetilo de plomo en las gasolinas de 3 ml/gal a menos de 0.54 ml/gal en la actualidad (Strauss y Mainwaring, 1990; Lacy, 1993).

PLOMO: EL METAL

El plomo es un elemento químico de número atómico 82, cuyo símbolo es Pb (Plumbum). Es un metal suave, denso, insípido y de color gris azulado, cuyas principales constantes físicas son: densidad 11,34; temperatura de fusión 327,4 °C.; temperatura de ebullición 1750 °C.; masa atómica 207,19; grado de oxidación 4+, 2+; se disuelve en ácido nítrico diluido. El Pb es maleable en frío y dúctil, es muy resistente a los agentes químicos y los alquimistas lo representaron por el símbolo de Saturno.

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

El Pb tiene muchas aplicaciones industriales, se utiliza en cámaras de plomo para la obtención de ácido sulfúrico, fundidoras de metales, en la fabricación de acumuladores, baterías, insecticidas, soldadura, tubos para conducción de agua, revestimiento de cables eléctricos, obtención de pigmentos, lacas y barnices, antidetonantes para gasolina, techados de Pb, depósitos para la industria química y fabricación de cerámica vidriada con Pb (Thienes y Haley, 1964).

El Pb es un metal tóxico que afecta a los organismo vegetales y animales; en los animales actúa como un tóxico generalizado que afecta varios órganos y tejidos incluyendo a los sistemas renal, cardiovascular, digestivo y nervioso (Mateu, 1994).

INTOXICACION POR PLOMO: EL ORGANISMO EN GENERAL

El Pb constituye un riesgo para la salud y los efectos de su toxicidad dependen de diversos factores como son la edad del organismo al estar en contacto con el tóxico, el tiempo de exposición y dosis a la cual el organismo fue expuesto. El plomo penetra al organismo a través de tres vías principales: gastrointestinal, pulmonar y mucocutánea. La intoxicación aguda por Pb es rara, se observa con mayor frecuencia en los niños por ingestión de compuestos inorgánicos insolubles a base de cloratos o sulfatos y se caracteriza por náuseas, vómitos, sabor metálico, cólicos abdominales, heces oscuras, colapso circulatorio y coma (Thienes y Haley, 1964; Mateu, 1994).

La intoxicación crónica por Pb, conocida como saturnismo, se caracteriza por los siguientes signos y síntomas (Chilsom, 1971; Fielding y Russo, 1977; Mateu, 1994):

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

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

La encefalopatía saturnina, rara en el adulto, se caracteriza por grave alteración del nivel de conciencia, estado convulsivo, ataxia, hipertensión intracranial y demencia aguda (alteraciones del comportamiento, memoria, etc). Se aprecia a plumbemias superiores a 100 mg/dl en el niño y superiores a 150 mg/dl en el adulto (Mateu, 1994).

INTOXICACION POR PLOMO: SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El Pb por ser tan aversivo al cerebro de los animales y provocar alteraciones conductuales ha sido el tóxico más estudiado en los últimos años. La intoxicación por Pb del Sistema Nervioso Central (SNC) se manifiesta en un continuo que varía desde la encefalopatía aguda con destrucción orgánica severa a altos niveles de exposición (Molina et al., 1979; Lögdberg et al., 1988), hasta la disfunción cerebral mínima que se manifiesta por alteraciones sutiles en procesos cognoscitivos o de otras funciones conductuales a bajos niveles de exposición (Needleman et al., 1990). Este continuo también se manifiesta a nivel celular y aunque hasta el momento no se ha elucidado el o los mecanismos de la acción neurotóxica del Pb, se han propuesto dos principales mecanismos de su toxicidad aunque pudieran existir más (Silbergeld, 1992). El Pb actúa sobre el SNC como toxina neuroontogénica que resulta en cambios persistentes e irreversibles en la arquitectura del SNC. También actúa como toxina neurofarmacológica que interfiere con los procesos de neurotransmisión, efectos que pudieran ser reversibles. Aunque estos dos mecanismos se traslapen, principalmente el neurofarmacológico que contribuye a las alteraciones neuroontogénicas, esta

clasificación provee una buena aproximación para tratar de explicar y unificar los hallazgos hasta ahora encontrados en las investigaciones epidemiológicas y experimentales (Bressler y Goldstein, 1991).

EFFECTOS EN LA NEUROGENESIS

El Pb durante la ontogénesis no produce alteraciones estructurales macroscópicas pero sí afecta a los sistemas bioquímicos y celulares que subyacen en la neurogénesis lo cual trae como consecuencia un déficit permanente en el funcionamiento del SNC (Bressler y Goldstein, 1991; Silbergeld, 1992).

Durante el desarrollo del SNC los neuroblastos que se producen en la capa ependimaria, por medio de la proliferación celular, deben desplazarse a través de la zona intermedia hacia la capa cortical para ocupar su destino final y así establecer la citoarquitectura normal del cerebro. Las células migratorias asumen una forma bipolar elongada y se mueven a lo largo de un tipo de célula glial llamada radial. Los neuroblastos cambian su forma, velocidad y modo de movimiento en su trayecto de la capa ependimaria hasta la corteza cerebral, bajo la influencia de todos los elementos que conforman los microambientes celulares por los que atraviesan (Rakic, 1972; Hatten, 1990).

El control del número de células está determinado por el balance entre la proliferación celular y la muerte celular. Las células animales tienen la habilidad de autodestruirse por medio de la activación de un programa intrínseco de muerte celular programada llamada apoptosis. La apoptosis es un mecanismo muy importante para moldear al organismo en desarrollo pues permite la eliminación de células que se han producido en exceso, además funciona como un mecanismo de defensa para eliminar células potencialmente dañinas que se han desarrollado inapropiadamente o que tienen daño genético provocado por diferentes agentes (Bénitez-Bribiesca, 1995; Steller, 1995; Thompson, 1995).

Una vez que las neuronas han migrado y ocupado su lugar permanente dentro de la corteza cerebral deben diferenciarse y establecer sinapsis funcionales que permitan a los individuos sobrevivir e interactuar con su ambiente, este proceso es guiado por varios mecanismos celulares que se expresan durante el desarrollo del SNC así como en etapas posteriores y le dan al tejido cerebral su plasticidad y dinamismo (Jacobson, 1978). Inicialmente los contactos sinápticos son escasos, después se incrementan rápidamente de tal manera que el número establecido de conexiones sinápticas durante los primeros años de vida excede al número presente en la edad adulta. La eliminación del exceso de sinapsis comienza en la vida temprana bajo control genético pero influenciada por la experiencia representada por la cantidad y patrón de actividad en vías neuronales específicas. Así el código genético determina el esquema general de producción y eliminación de sinapsis mientras que la actividad neuronal determina cuáles sinapsis específicas persistirán y cuáles no (Jacobson, 1978). El Pb es capaz de alterar la liberación de neurotransmisores en las terminales presinápticas de una manera

doble, por un lado aumenta la liberación espontánea de neurotransmisor (dopamina, acetilcolina y GABA) y por otro lado bloquea la neurotransmisión producida por la despolarización de las terminales nerviosas. El resultado final durante la neurogénesis puede ser un SNC con un número y densidad normales de contactos entre sus neuronas pero con conexiones pobremente escogidas (Goldstein, 1992).

Otro mecanismo que regula la sinaptogénesis lo constituyen las moléculas neuronales de adhesión celular (MNAC) que son proteínas localizadas en la superficie exterior de las células y una vez iniciado el crecimiento orientan a los nuevos axones y dendritas para que establezcan las sinapsis adecuadas, por lo que las MNAC son consideradas como uno de los factores que regulan los movimientos morfogenéticos (Edelman, 1985).

Dado que el Pb altera la acción de las MNAC también afecta el desarrollo de la comunicación celular y el establecimiento normal del número y densidad de contactos sinápticos que a su vez altera la conformación de la estructura fina del SNC; tal es el caso del hipocampo en desarrollo que muestra disminución en el número de MNAC cuando existe exposición al Pb en etapas tempranas del desarrollo. Efecto similar ocurre también en los organismos adultos, en los cuáles la expresión de MNAC continúa en regiones cerebrales con potencial de neuroplasticidad, como en el hipocampo, donde participa en la formación de nuevas sinapsis, mecanismo importante en el proceso de memoria (Goldstein, 1992; Murphy, 1995). El Pb también bloquea los receptores NMDA que son críticos durante la neurogénesis en el reconocimiento de la vía final de las neuritas y después en la formación de memoria (Komuro y Rakic, 1993).

En la organización sináptica también participan las proteínas cinasas, enzimas particularmente sensibles a la estimulación por Pb, de las cuáles la más estudiada ha sido la proteína cinasa C (PKC), enzima que participa en procesos de proliferación, diferenciación y de otras funciones celulares por medio de la fosforilación de proteínas y que puede ser estimulada a muy bajas concentraciones de este metal en la sangre (Goldstein, 1990; Markovac y Goldstein, 1988; Markovac y Goldstein, 1988).

EFFECTOS NEUROANATOMICOS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El principal efecto neuropatológico de la encefalopatía aguda por Pb es el edema intersticial, el cuál está directamente relacionado con los cambios en la Barrera Hematoencefálica (BHE) producto de la acción tóxica del Pb (Moorhouse et al., 1988).

BARRERA HEMATOENCEFALICA

La BHE se considera como la serie de mecanismos que regulan los gradientes de concentración de las sustancias entre el cerebro y el medio intravascular. Es muy importante que en el SNC la composición y concentración del líquido intercelular

se mantenga dentro de ciertos límites y con margen muy estrecho de variación pues de ello depende en gran parte la capacidad para generar y propagar los impulsos nerviosos. No obstante que en el fenómeno de la BHE pueden intervenir todos y cada uno de los elementos tisulares que rodean a las células nerviosas, desde la pared capilar hasta la membrana plasmática de la propia neurona, comúnmente se acepta que el principal control de restricción se ejerce en la interfase capilar-glia (López-Antúnez, 1979). Las características estructurales de los vasos capilares en el SNC son diferentes a los del resto del organismo. Los capilares cerebrales son de tipo no fenestrado para limitar la difusión de sustancias. Para compensar esta barrera impermeable y permitir el transporte selectivo en la interfase capilar-glia existen sistemas de transporte que regulan el paso de sustancias en una y otra dirección. Los astrocitos en el cerebro desempeñan un importante papel en la expresión y mantenimiento de la BHE ya que inducen al endotelio a expresar el fenotipo de dicha barrera. El Pb rompe la BHE y provoca cambios vasculares predominantemente localizados en la materia blanca del cerebro y del cerebelo incluyendo hinchazón capilar del endotelio e hiperplasia, capilares necróticos y hemorragias perivasculares (Lögdberg et al., 1988). La muerte celular del endotelio puede compensarse con un incremento en el brote y crecimiento de los segmentos capilares restantes (Conradi et al., 1990). Se ha demostrado que el Pb daña los astrocitos incluso a muy bajas dosis a diferencia de las células endoteliales que son más resistentes a la toxicidad provocada por este metal, lo que sugiere que los astrocitos al ser dañados por el Pb pierden su habilidad para mantener la expresión de la BHE en las células endoteliales (Holtzman et al., 1987). Las manifestaciones del daño en la BHE dependen de la gravedad de la intoxicación y varían desde la inadecuada entrada de sustancias esenciales y la eliminación de moléculas potencialmente destructivas hasta el colapso de ésta con la formación de edema cerebral masivo que puede llevar al organismo a la muerte. El Pb al dañar la BHE altera el flujo sanguíneo local y el suministro de nutrientes con el consiguiente retraso en la maduración del SNC (Moorhouse et al., 1988; Linnamägi y Kaasik, 1995).

La intoxicación por Pb altera la neuroanatomía principalmente del hipocampo, la corteza cerebral y el cerebelo.

HIPOCAMPO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Existen muchas investigaciones que sugieren que existe una relación entre la exposición a Pb y las alteraciones anatómicas del hipocampo. La gran tasa de desarrollo que ocurre durante el primer mes de vida postnatal en el giro dentado (de la rata) en combinación con la mayor concentración de Pb en esta estructura comparada con otras regiones cerebrales pueden subyacer el incremento en la vulnerabilidad del hipocampo en desarrollo a los efectos neurotóxicos del Pb (Gutowski et al., 1997).

La concentración de Pb en el hipocampo es mucho mayor que en el resto del cerebro. El hipocampo de la rata contienen el 50% del Pb que se acumula en el tejido nervioso aunque constituye tan solo el $13.40 \pm 0.74\%$ del peso total cerebral (Fjerdingstad et al., 1974). El Pb no afecta la organización trilaminar del

hipocampo ni produce vascularización anormal (Alfano y Petit, 1982; Alfano et al., 1983).

La temprana exposición postnatal al Pb resulta en una reducción general del desarrollo hipocámpico con reducción de su anchura y longitud del giro dentado (Alfano y Petit, 1982).

La exposición a Pb también afecta a las neuronas en cuanto a su desarrollo axonal, dendrítico y sináptico. Las células piramidales del hipocampo y granulares del giro dentado presentan pérdida de espinas dendríticas y decremento en la extensión y longitud de sus ramificaciones (Alfano y Petit, 1982; Campell et al., 1982; Kiraly y Jones, 1982; Gutowski et al., 1997).

La exposición a Pb decremента el desarrollo y longitud de la vía de fibras musgosas que proyectan del giro dentado al árbol dendrítico apical de las células piramidales del sector CA3 (Alfano et al., 1982). El Pb no afecta la inervación colinérgica proveniente del septum pero si reduce la plasticidad colinérgica observada en el giro dentado posterior a la transección unilateral de la vía perforante (Alfano et al., 1983).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CORTEZA CEREBRAL

La exposición a Pb decremента el desarrollo de la corteza cerebral y reduce la densidad y complejidad sinápticas de sus neuronas. El decremento en la complejidad sináptica es más evidente en la capa molecular, pero también se observa en capas profundas de la corteza. Estos efectos inicialmente fueron descritos a altas dosis de Pb en la cual los individuos presentaban desnutrición por lo que era difícil separar los efectos que ejercían la intoxicación por Pb y la desnutrición sobre el desarrollo cortical. Sin embargo estudios posteriores han demostrado que estos decrementos en el desarrollo cerebral pueden producirse en ratas neonatas en ausencia de desnutrición a bajas concentraciones de Pb en la sangre (36mg/dl) (McCauley et al., 1979; Needleman et al., 1984).

CEREBELO

El cerebelo también ha sido catalogado como blanco para la acción tóxica del Pb. La intoxicación crónica por este metal no altera la organización trilaminar del cerebelo pero a altas dosis si provoca alteraciones vasculares (Conradi et al., 1990). La acumulación excesiva de Pb en el cerebelo de ratas lactantes provoca reacciones hemorrágicas limitadas al cerebelo aunque las concentraciones de Pb sean similares en otras regiones cerebrales lo que sugiere mayor vulnerabilidad de los capilares cerebelosos en relación con los capilares de cualquier otra parte del cerebro (Goldstein et al., 1974). El Pb se acumula en mayor cantidad en la sustancia blanca cerebelosa que en la corteza de esta misma estructura. Aunque la capa de células de Purkinje acumula menos niveles de Pb que las otras capas corticales existe evidencia de desarrollo anormal de las células de Purkinje y de

sus dendritas (Holtzman et al., 1987; Freedman et al., 1990; Sourander et al., 1990).

EFFECTOS NEUROFARMACOLOGICOS

Los mecanismos neurofarmacológicos de la toxicidad por Pb no se conocen perfectamente; sin embargo, se sabe que el Pb puede competir con el zinc, el hierro y el calcio, limitar su eficacia en sitios críticos y/o sustituirlos en eventos sinápticos dependientes de estos iones (Shih y Hanin, 1978). Como estos efectos están directamente relacionados con la presencia de Pb en la sinapsis, son potencialmente reversibles si éste es removido; sin embargo, la exposición continua puede provocar cambios a largo plazo a nivel pre y post sináptico como son las alteraciones en el funcionamiento del hipocampo (Silbergeld, 1992).

Debido a la incorporación preferente del Pb al hueso en formación y su habilidad para usar los sistemas de absorción y transporte que normalmente distribuye el Ca^{2+} en el cuerpo, no es sorprendente que el Pb pueda sustituir al Ca^{2+} como un segundo mensajero intracelular, entrar en la célula e imitar su acción como regulador de funciones celulares. Muchas funciones celulares están reguladas por el aumento en la concentración intracelular de Ca^{2+} , el cuál puede activar directamente ciertas enzimas o unirse a proteínas reguladoras como la calmodulina y las proteínas cinasas C (PKC), además de que interviene en la liberación y recaptura de neurotransmisores y sus precursores (Silbergeld, 1977; Goldstein y Ar, 1983; Angst y Fung, 1985; Markovac y Goldstein, 1988; Markovac y Goldstein, 1988). Este incremento en la liberación está relacionado con el hecho de que la entrada de Ca^{2+} en la célula es importante para la exocitosis y el Pb sustituye a este ión en dicho proceso (Minnema et al., 1986; Minnema et al., 1988).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

EFFECTOS BIOQUIMICOS

Entre los cambios bioquímicos asociados con el Pb se encuentran cambios en una gran variedad de sistemas de neurotransmisores incluyendo los sistemas dopaminérgicos, serotoninérgicos, GABAérgicos, colinérgicos, glutamatérgicos y de péptidos opioides (Carroll et al., 1977; Moresco et al., 1988; Cahero 1992; Cory-Slechta y Pound, 1995). Aunque aún existen inconsistencias y contradicciones en los resultados de las investigaciones en cuanto al efecto del Pb sobre los diferentes sistemas de neurotransmisión, en general se acepta que la exposición prolongada a bajos niveles de Pb aumenta la liberación basal o espontánea en casi todos los sistemas de neurotransmisión hasta ahora investigados. En contraste, la exposición a altos niveles de Pb bloquea la liberación de neurotransmisores tanto en el SNC como en el periférico.

Los esfuerzos para comprender la potencial influencia neurofarmacológica del Pb sobre la conducta continúa siendo inconclusa dado que los resultados obtenidos hasta la fecha no han sido concluyentes debido en parte a la falta del total conocimiento de los mecanismos neurofarmacológicos en sí. Las investigaciones

que tratan de establecer la relación que existe entre la alteración de los sistemas de neurotransmisión con las manifestaciones conductuales se han enfocado principalmente a los sistemas dopaminérgico y glutamatérgico. La hiperactividad, el aumento de los movimientos estereotipados, el pobre equilibrio postural y los déficits motores en general producidos por la intoxicación aguda por Pb se han relacionado con cambios en los sistemas dopaminérgicos (Fielding y Russo, 1977; Moresco et al., 1988; Bhattacharya et al., 1995; Newland et al., 1996); mientras que las alteraciones en los procesos de aprendizaje y memoria se han relacionado con alteraciones de los sistemas glutamatérgicos (Alkondon et al., 1990; Altmann et al., 1993; Ishihara et al., 1995; Jett et al., 1996).

CAMBIOS EN LOS SISTEMAS GLUTAMATERGICOS

Se han postulado muchas teorías a cerca de la función del hipocampo las cuales son diferentes en detalle pero todas sugieren que esta estructura que forma parte del sistema límbico es importante para la adquisición de nueva información (Livingston y Escobar, 1971). En los roedores el daño al hipocampo produce déficits en el aprendizaje así como en la recuperación de información espacial; en los seres humanos con daño del lóbulo temporal se observan dificultades similares (además de otros déficits).

El Pb se concentra en grandes cantidades en el hipocampo y no solo afecta su estructura sino también su funcionamiento, este metal reduce la potenciación a largo plazo (PLP) del hipocampo, la cuál es un modelo de plasticidad neuronal y función sináptica estrechamente relacionada con los receptores N-methyl-D-aspartato (NMDA) a glutamato (Lasley et al., 1993).

La PLP se caracteriza por un incremento persistente en la transmisión sináptica después de un tren de estimulación tetánica a nivel celular. A nivel conductual provee la base fisiológica de la consolidación de información en el cerebro, se ha comprobado que su inhibición trae consigo problemas de aprendizaje y memoria sobre todo aquellos que involucran claves de tipo espacial (Gilbert et al., 1996).

Los receptores a glutamato, kainato y quisqualato median la respuesta normal de baja frecuencia en muchas vías del hipocampo, los receptores NMDA participan en la PLP que se produce por una breve estimulación de alta frecuencia en las vías excitatorias de esta estructura. El Mg^{2+} bloquea a los receptores NMDA de una manera dependiente de voltaje. Cuando el Mg^{2+} desbloquea al receptor el Ca^{2+} entra a la célula por estos canales y dispara una secuencia de eventos que culminan con el aumento de la eficiencia sináptica.

La PLP se mantiene principalmente por tres mecanismos: **presináptico** que refleja un sostenido incremento en la liberación de neurotransmisor, **postsináptico** que refleja un incremento en el número de receptores sinápticos funcionales y **morfológico** que se manifiesta como un cambio en la geometría sináptica.

Una PLP más prolongada depende de la síntesis de proteínas además de la activación de las cinasas y una PLP más prolongada todavía puede requerir

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

también un aumento en la expresión genética. La diferencia con la potenciación postetánica es que ésta no depende de los receptores NMDA y ocurre en todas las sinápsis (Collingridge y Bliss, 1987; Morris et al., 1988).

EFFECTOS CONDUCTUALES

Se sabe que el SNC inmaduro es particularmente vulnerable al Pb, el cuál pasa libremente las estructuras placentarias y llega al feto pudiendo originar aborto, prematuridad, muerte intrauterina y retardo en el crecimiento fetal y postnatal, además de que existe posibilidad de alteraciones cromosómicas y malformaciones congénitas (Varma et al., 1974; Mykkanen et al., 1979; Needleman et al., 1984; Landrigan y Curren, 1992). En México las principales fuentes de exposición a Pb en la población infantil son vivir cerca de calles con intenso tráfico vehicular, uso de cerámica vidriada con Pb y el hábito de morder lápices (Molina et al., 1979; López et al., 1996; Muñoz et al., 1993). Las evaluaciones y test psicométricos aplicados durante los primeros años de vida presentan una alta correlación con los indicadores de exposición a Pb del feto (niveles de Pb en el cordón umbilical y sangre de la madre) (Needleman et al., 1990; Sosa et al., 1997).

Los niños que al nacer presentan altos niveles de plomo en el cordón umbilical muestran menor desarrollo cognoscitivo. En los niños de edad escolar la exposición a este metal altera las funciones neuropsicológicas que incluyen bajo rendimiento académico, menores puntajes en los test para medir el Coeficiente Intelectual, déficits en el lenguaje (razonamiento gramatical y lectura), pobre atención y ejecución de tareas en el salón de clases. También presentan mayor incidencia de disfunciones en los movimientos motores finos y gruesos, mayores tiempos de reacción, pobre desempeño en las tareas de digitalización y coordinación mano-ojo. Estos efectos deletéreos se mantienen a través de los años y persisten, al menos, hasta la edad adulta joven (Bellinger et al., 1987; Needleman et al., 1990; Siles, 1990; Muñoz et al., 1993; López et al., 1996).

En los adultos la intoxicación por Pb afecta principalmente al SN periférico, en el cuál, puede disminuir la velocidad de conducción de los nervios motores y sensoriales (30-60 mg/dl), probablemente por alteración en la mielinización (Chisolm, 1971; Lilienthal et al., 1990). En cuanto a los efectos sobre el SNC se manifiestan, a bajas dosis, como síntomas no específicos: fatiga, depresión, irritabilidad, decremento de la libido y dolor de cabeza (Silbergeld, 1992; Mesch et al., 1996; Underger et al., 1996). A altas dosis el Pb altera la memoria a corto plazo y la coordinación visomotora fina (Needleman et al., 1990; Solliway et al., 1995).

En estudios con animales de laboratorio (ratas y monos) se ha observado que el Pb produce alteraciones en la actividad locomotora como hiperactividad, aumento de los movimientos estereotipados y perseveración (responder repetitivamente). En cuanto a los procesos de aprendizaje y memoria el Pb altera principalmente el

aprendizaje de evitación, el condicionamiento operante (intervalo fijo, razón fija y ejecución de programas concurrentes de reforzamiento) así como el aprendizaje y la memoria espacial (Angell y Weiss, 1982; Cory-Slechta y Thompson, 1979; Cory-Slechta et al., 1981; Cory-Slechta et al., 1983; Cory-Slechta et al., 1985; Walsh et al., 1986; Lilienthal et al., 1990; Newland et al., 1994; Jett et al., 1996; Jett et al., 1997).

APRENDIZAJE Y MEMORIA

El SNC posee una gran capacidad de plasticidad, es decir puede cambiar en respuesta a los eventos que ocurren durante la vida de un organismo y es precisamente esta capacidad de cambiar en respuesta a las experiencias individuales lo que le da al organismo la habilidad de aprender y recordar. Para contestar a la pregunta de cómo ocurren el aprendizaje y la memoria se han realizado muchas investigaciones a diferentes niveles, desde el comportamiento del animal en su conjunto hasta los sistemas cerebrales o incluso el estudio de neuronas individuales (Morris et al., 1988). Actualmente existen muchas definiciones de aprendizaje y memoria, a continuación se presentan unas definiciones que aunque simplifican mucho del trabajo que se ha realizado en estas áreas del conocimiento proveen una guía para enmarcar el presente trabajo.

Aprendizaje se refiere a la adquisición de nuevo conocimiento o información a cerca de los eventos del mundo; y la **memoria** se refiere a los procesos por los cuales se retienen dichos conocimientos (Morris et al., 1988; Bermúdez-Rattoni, 1998).

Gracias a la memoria la nueva información adquirida es almacenada y recuperada (evocada) para su uso posterior. La evocación es importante pues es la única forma para demostrar si un individuo recuerda algo. De acuerdo a su duración la memoria puede ser a corto y largo plazo. La *memoria a corto plazo* (MCP) se refiere a la nueva información que se pierde después de un breve período de tiempo (segundos, minutos o más) a menos que se refuerce.

La *memoria a largo plazo* (MLP) se refiere a la retención de la información adquirida por períodos extensos de tiempo que pueden ser incluso por toda la vida del individuo.

El aprendizaje y la memoria ocurren en la intrincada red neuronal del SNC. El aprendizaje y la MCP involucran mecanismos que tienen lugar en las sinapsis cuya eficiencia puede ser modificada mediante fenómenos de plasticidad tales como la activación de sinapsis silentes, cambios en la eficiencia funcional de las sinapsis existentes o de la formación de nuevas sinapsis, a través de sistemas de segundos mensajeros, modulación presináptica o postsináptica o la actividad de los canales iónicos y/o de los receptores (Bermúdez-Rattoni, 1998).

En la MLP intervienen mecanismos para sintetizar nuevas proteínas por medio de la activación de los mecanismos de transcripción del DNA y la actividad de segundos mensajeros; tal como ocurre en la potenciación a largo plazo, modelo de

plasticidad neuronal y función sináptica estrechamente relacionada con la consolidación de información en el cerebro (Morris et al., 1988; Gilbert et al., 1996).

Para la experimentación con animales la memoria se ha clasificado en memoria de trabajo y memoria de referencia. La memoria de trabajo se refiere a la información que se necesita dentro de un ensayo y corresponde a la memoria a corto plazo. Mientras que la memoria de referencia se refiere a la información que se adquiere a través de los ensayos por lo que corresponde a la memoria a largo plazo. En la memoria de referencia espacial se utilizan las versiones de "pista" y/o "espacial". Una teoría actual del funcionamiento del hipocampo sugiere que esta estructura es particularmente importante para poder adquirir conocimiento de la relación de los objetos en el espacio (versión espacial), y no es tan importante para la memoria de claves específicas (versión de pista) o de secuencia de respuestas (Barnes, 1988).

Las lesiones en el hipocampo imposibilitan al sujeto para realizar muchas tareas que involucran mecanismos de memoria espacial que se refieren al recuerdo de información a cerca de un lugar en el ambiente. Barnes diseñó una plataforma circular que requiere la discriminación de un lugar particular con respecto al entorno, este método se basa en la tendencia de los roedores de evitar los lugares abiertos e iluminados y buscar refugios cerrados y oscuros, por lo cual esta prueba no requiere regímenes alimenticios o el uso de choques eléctricos lo que la hace ideal para evaluar sujetos en desarrollo (Barnes, 1979).

En cuanto al aprendizaje existen a grandes rasgos dos tipos: el aprendizaje no asociativo y el asociativo. La habituación y la sensibilización son formas de aprendizaje no asociativo.

La **habituación** es un proceso por el cual un animal aprende a no responder a un estímulo repetitivo, la **sensibilización** se refiere al proceso en el cual después de una o múltiples exposiciones a un estímulo fuerte los reflejos defensivos del animal aumentan considerablemente (Morris et al., 1988).

En el aprendizaje asociativo un animal aprende a cerca de la relación entre dos eventos y comprende el condicionamiento clásico y el operante. En el **condicionamiento clásico** un estímulo condicionado se vuelve altamente efectivo en producir una respuesta conductual después de que ha sido temporalmente pareado (usualmente en repetidas ocasiones) con un estímulo incondicionado (Morris et al., 1988). En el **condicionamiento operante**, también llamado instrumental, se forma una asociación entre la conducta y sus consecuencias.

En el presente estudio se utilizo el laberinto de Barnes para evaluar si la intoxicación con Pb afecta la ejecución en este laberinto, que involucra la participación del hipocampo (Barnes, 1979), estructura cerebral cuyo desarrollo normal se ve afectado por dicho metal (Altmann et al., 1993).

Además se evaluó si la intoxicación con Pb altera la ejecución en un laberinto que involucró la discriminación de la presencia o ausencia de un estímulo luminoso y una elección espacial (derecha o izquierda) para localizar la salida. Esta prueba se realizó en un estanque de agua para aprovechar la tendencia de los roedores de evitar estar sumergidos en agua por lo que no fue necesario privarlos de bebida y/o alimentos, así como no utilizar algún estímulo aversivo tal como los choques eléctricos y dado que el agua a temperaturas extremas (muy fría o muy caliente) también constituye un estímulo aversivo, el agua se mantuvo a 26°C (Yu et al., 1996).

Las observaciones conductuales se completaron con un estudio descriptivo que comparó el tejido cerebral de los sujetos del grupo control con el tejido cerebral de los sujetos del grupo experimental. Las observaciones histológicas se realizaron a los 10, 20, 30, 40 y 50 días postnatales, para lo cual se utilizaron las técnicas de tinción de hematoxilina-eosina, Nissl, mielina y técnica de Golgi.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

METODO

PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACION DEL PROBLEMA

El Pb es un contaminante estrechamente relacionado con alteraciones de conducta y deficiencias en los procesos de aprendizaje y memoria, sobre todo en los niños los cuales son más vulnerables a la acción tóxica del Pb en comparación con los adultos. En este trabajo se plantea por medio de un modelo experimental en rata el estudio de los efectos que tiene la intoxicación crónica por Pb desde la etapa prenatal sobre la ejecución en un laberinto de agua y en el laberinto de Barnes, así como sobre el desarrollo del tejido cerebral y su maduración en etapas postnatales.

OBJETIVO

Determinar si la intoxicación por Pb tiene una influencia importante en la ejecución conductual que involucra discriminación e información espacial y determinar si altera la conformación normal del tejido cerebral.

HIPOTESIS

El plomo altera la ejecución de tareas que involucran discriminación e información espacial y altera la estructura normal del tejido cerebral cuando entra en contacto con el individuo en etapas tempranas del desarrollo (prenatal y postnatalmente).

VARIABLES

Variable independiente:

Intoxicación crónica con acetato de Pb al 1%.

Variables dependientes:

Alteraciones en la ejecución del laberinto de Barnes, el cuál involucra información de tipo espacial.

Alteraciones en la ejecución de un laberinto con agua que involucró la discriminación de la presencia o ausencia de un estímulo luminoso.

Alteraciones estructurales macroscópicas y/o microscópicas del tejido cerebral.

DEFINICION OPERACIONAL DE VARIABLES

Variable independiente:

Haber consumido o no agua con acetato de plomo al 1% *ad libitum* durante la vida pre y post-natal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Variable dependiente:

Como alteraciones en el laberinto de Barnes se consideró el tiempo requerido para localizar el compartimento oscuro, el número de veces que las ratas pasaron por el centro de la mesa y el número de agujeros explorado antes de encontrar el agujero meta.

Como alteraciones conductuales en el laberinto de agua se consideró el tiempo empleado en la realización de la prueba y el número de errores cometido durante cada sesión.

Como alteraciones estructurales del tejido cerebral se consideraron cambios morfológicos de las neuronas, en su soma, ramificaciones dendríticas y axón; así como alteraciones citoarquitectónicas de la corteza cerebral, la corteza cerebelosa y el hipocampo.

DEFINICION CONCEPTUAL DE VARIABLES**Variable independiente:**

Intoxicación con Pb: Estado crónico o agudo de envenenamiento por la absorción continua de plomo.

Variable dependiente:

Alteración conductual en el laberinto de Barnes: cambio en la forma de realizar la prueba por aumento en el tiempo de ejecución, número de agujeros visitado y número de veces que las ratas pasaron por el centro.

Alteración conductual en el laberinto de agua que involucraba discriminación: cambio en el tiempo empleado para realizar la prueba y aumento en el número de errores.

Alteración estructural del tejido cerebral: cualquier cambio en la organización y estructura macroscópica o microscópica del tejido cerebral.

SUJETOS

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

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MUESTREO

El tipo de muestreo empleado fue aleatorio simple. El Bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas proporcionó las ratas, las cuales fueron divididas al azar en dos grupos, las ratas nacidas de madres que ingirieron acetato de plomo conformaron el grupo experimental y las ratas nacidas de madres que ingirieron agua sin acetato de plomo conformaron el grupo control.

TIPO DE ESTUDIO

Experimental, donde se manipuló la variable de la intoxicación por Pb para determinar el impacto que tiene la ingestión de este metal sobre la ejecución en un laberinto de agua que involucra la discriminación de la presencia o ausencia de un estímulo luminoso y el laberinto de Barnes, así como para estudiar su efecto sobre la citoarquitectura cerebral.

DISEÑO

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

INSTRUMENTOS Y MATERIALES

Para el laberinto de Barnes se empleó una superficie circular de madera de 150 cm de diámetro sostenida a una altura de 100 cm por cuatro patas e iluminada por un foco de 90 watts colocado en el centro a 60 cm de altura. La superficie circular tenía 16 orificios de 5 cm de diámetro colocados a cinco centímetros de la orilla y separados entre si por 23.4 cm. En 8 de los 16 orificios podía colocarse a manera de cajón un compartimento oscuro de 30 cm de largo por 25 cm de ancho y 20 cm de altura.

Para el laberinto de agua se empleó un recipiente para baño maría (Precision Scientific Group, modelo 186, GCA corporation) de 80 cm de largo por 51 cm de ancho y 24 cm de profundidad, dividido en tres carriles por medio de dos estructuras sólidas y opacas en los primeros 60 cm, después de los cuales los tres carriles se comunican, en el carril central se colocó un foco (20 watts) el cuál al estar encendido o apagado constituyó el estímulo discriminativo, una escalera de madera colocada al final del carril izquierdo o derecho (dependiendo del ensayo) permitía la salida del recipiente, al mismo tiempo que se obstruía el carril contrario. A lo largo del perímetro del recipiente se colocó una estructura de madera de 20 cm de altura para impedir la salida de las ratas por algún otro lugar diferente a la salida. El recipiente contenía agua a temperatura de $26 \pm 1^\circ \text{C}$.

Para ambas pruebas se utilizaron hojas de registro para dibujar la trayectoria que siguieron las ratas durante la prueba y el tiempo de ejecución. Las hojas de registro tamaño carta incluían los datos generales de la cría en turno de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

experimentación (número de camada, color de la rata, condición de intoxicación, número de sesión, fecha y hora de registro) así como un esquema de la superficie circular para registrar la prueba de Barnes y un esquema del tanque con agua para registrar la prueba conductual en el laberinto de agua.

PROCEDIMIENTO

PREPARACION DE LOS ANIMALES

Ratas adultas hembras vírgenes (250-300 gr) fueron intoxicadas crónicamente por medio de la administración por vía oral de sales de plomo solubles en agua. Las ratas ingirieron agua con acetato de plomo al 1% *ad libitum* durante 3 días y después fueron cruzadas con machos adultos normales ($n= 1/\text{caja}$), en jaulas de plástico (30x40x20 cm) con acceso libre al alimento (chow de Purina). Tres días antes del parto fueron colocadas en jaulas individuales donde permanecieron con su camada hasta el día del destete (25 postnatal). Para establecer el día del parto se revisaron las cajas en la mañana y en la noche, este día fué considerado como el día cero. Transcurridas 24 hr (día 1) después del parto se retiraron las crías de los nidos se pesaron y ajustaron las camadas a 9 crías. De cada camada 4 ratas fueron sacrificadas para la obtención de tejido cerebral (10, 20, 30, 40 o 50 días) y las cinco restantes fueron empleadas en el estudio conductual, las ratas se pesaron cada 10 días durante todo el estudio y 40 días se separaron por sexo en jaulas con 2-3 individuos. Al término del estudio conductual todas las ratas fueron sacrificadas.

PRUEBAS CONDUCTUALES

Laberinto de Barnes

Las ratas a la edad de 20 días se comenzaron a entrenar. Como preparación previa, de los 17 a los 19 días de edad se colocaron diariamente por 15 minutos en el compartimento oscuro, para que se familiarizaran con él. A la edad de 20 días se llevo a cabo la sesión 1. Durante esta sesión las ratas se colocaron en el centro de la superficie circular adentro de un cilindro de plástico opaco (20 cm de diámetro y 20 de altura), 20 seg. después el cilindro fué retirado; se les dejó libremente durante 4 minutos para que exploraran la mesa y encontraran el compartimento; si transcurrido ese tiempo no lo habían localizado, manualmente se introducían en él donde permanecían 2 minutos. Este procedimiento se llevó a cabo dos veces al día con un intervalo de 2 minutos entre ensayo tiempo en el que permanecieron en su jaula.

A partir de la sesión 2 se colocaron al centro de la superficie circular y se cronometró el tiempo que tardaron en localizar el compartimento, el tiempo para lograr la tarea se mantuvo en 4 min y se redujo a 1 min el tiempo para permanecer en el compartimento. Se registró con lápiz y papel el recorrido que realizó la rata por la mesa así como el número de orificios "visitado", durante 13 sesiones con dos ensayos diarios, cinco veces por semana. La sesión 14 se realizó sin el

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

compartimento oscuro, transcurridos 4 minutos las ratas se retiraron manualmente a su jaula. En las sesiones 15 -18 se realizó la misma prueba pero con el compartimento colocado a 180° de la posición original empleada en la primera fase (es decir el agujero opuesto). La mesa se rotó aleatoriamente durante las 18 sesiones de tal manera que el compartimento oscuro estuvo colocado en la misma posición con respecto al entorno pero debajo de 1 de los 8 diferentes orificios donde podía colocarse el compartimento, para evitar rastros olfativos. El orden en que las ratas se entrenaban también fue al azar. Una misma rata siempre se entrenó a la misma hora del día con margen de ± 1 hora.

Laberinto de agua

Para el entrenamiento en este laberinto, las ratas fueron entrenadas a partir del día 20 postnatal. Los días 20 al 25 las ratas nadaron por el carril central al final del cuál se colocó la escalera. De los días 25 a los 120 las ratas fueron entrenadas para discriminar la presencia o ausencia de un estímulo luminoso (foco de 20 watts) colocado al final del carril central, con la luz encendida la rata debía dar vuelta en "U" hacia la derecha para poder salir del recipiente con agua por medio de la escalera colocada en dicho carril; con la luz apagada la rata debía nadar por el carril de la izquierda para poder salir del recipiente. Se realizaron dos sesiones por día cinco veces por semana (a la misma hora ± 1 hora). En una sesión se realizaban ensayos alternados o dos ensayos iguales. Se registró con lápiz y papel la ruta seguida por la rata y se cronometró el tiempo empleado para salir del recipiente.

ESTUDIO HISTOLOGICO

Las ratas fueron anestesiadas y perfundidas. Los cerebros fueron extraídos y se continuó su fijación por inmersión en formol al 10%. Transcurridas 24 hr fueron cortados en forma sagital y coronal de 2 mm de espesor. El tejido fue deshidratado en sucesión de alcoholes de concentración que aumentaba en forma progresiva y fueron incluidos en bloques de parafina. Los cerebros fueron cortados en microtomo a 6 micras de espesor y se efectuaron pruebas de hematoxilina-eosina (HE), Nissl y mielina. Otros cerebros fueron cortados en microtomo por congelación y se realizaron tinciones en plata (Golgi). Los tejidos se observaron al microscopio para ser analizados descriptivamente.

ANALISIS ESTADISTICO DE RESULTADOS

En los resultados del laberinto de Barnes se comparó la media de todas las sesiones obtenida por cada grupo por medio de la pruebas *t* de Student para grupos independientes. Además se aplicó la prueba ANOVA de un factor para comparar las medias obtenidas en cada sesión por ambos grupos y se aplicó la prueba post-hoc de Tukey (Daniel, 1996). Se analizaron de la misma manera el número de agujeros "visitado" y el número de veces que las ratas pasaron por el

centro, en la ejecución de la prueba de memoria. Se consideró pasar por el centro trasladarse de un lugar a otro de la mesa sin explorar, al menos, dos orificios continuos.

La prueba del laberinto de agua se analizó con la prueba *t* de *Student* para comparar la media total obtenida por cada grupo; además se utilizó la prueba ANOVA de un factor para comparar la media obtenida para cada sesión, se aplicó la prueba post-hoc de Tukey. También se comparó el número de veces que las ratas no lograron la ejecución correcta de la prueba tanto para la media total de los grupos (*t* de *Student*) como para la media obtenida en cada sesión (ANOVA). Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de significancia de por lo menos 0.05 (Daniel, 1986).

Los tejidos cerebrales de ambos grupos se observaron al microscopio y se compararon descriptivamente de acuerdo con la edad de los individuos (10, 20, 30, 40 y 50 días postnatales).

RESULTADOS DATOS GENERALES

DATOS GENERALES DE LAS MADRES (grupo experimental y control)

El grupo experimental constó de 7 hembras y el grupo control de 4. Las madres de ambos grupos no presentaron enfermedades durante el estudio, por lo que no se presentó ninguna muerte espontánea, además no se observaron alteraciones motoras como parálisis o temblores de las extremidades en las ratas del grupo experimental.

En cuanto al número de crías nacidas por parto no hubo diferencias significativas entre las madres de ambos grupos; el grupo experimental tuvo un promedio de 11 crías por parto y el grupo control de 13.

El peso corporal de las madres de ambos grupos se mantuvo sin cambio, excepto durante el embarazo, donde obviamente se presentó un aumento gradual.

DATOS GENERALES DE LAS CRIAS (grupo experimental y control)

En el grupo experimental hubo mayor índice de mortalidad de las ratas recién nacidas en los 5 primeros días postnatales en comparación con el grupo control, pasado este período no se presentaron muertes.

En las ratas que conformaron ambos grupos se observó un incremento gradual en el peso corporal de acuerdo al crecimiento de los individuos lo cual se muestra en la tabla 1. El peso de los machos y hembras del grupo control fue ligeramente mayor que el del grupo experimental, sin embargo esta diferencia estadísticamente no fue significativa ($p < 0.005$).

TABLA1. PESO PROMEDIO DE LAS RATAS*				
Edad en Días	GRUPO CONTROL		GRUPO EXPERIMENTAL	
	HEMBRAS	MACHOS	HEMBRAS	MACHOS
000	7.56 ± 0.86	7.57 ± 1.08	7.55 ± 1.45	7.71 ± 1.75
010	24.39 ± 2.29	24.96 ± 3.15	24.65 ± 3.9	25.53 ± 2.19
020	49 ± 5.78	52.48 ± 6.01	43.27 ± 8.68	48.66 ± 6.05
030	96.25 ± 9.79	103.23 ± 8.21	84.20 ± 8.94	99.65 ± 5.64
040	132.75 ± 9.91	155.40 ± 11.91	122.25 ± 11.79	151.80 ± 9.49
050	171.85 ± 9.16	226.6 ± 12.50	165.92 ± 11.62	215.38 ± 9.76
060	209.35 ± 7.61	289.2 ± 12.06	191.33 ± 11.22	277.94 ± 8.77
070	229.85 ± 6.75	332.33 ± 12.92	221.46 ± 8.61	312.56 ± 8.89
080	244.68 ± 7.66	355.32 ± 11.63	237.31 ± 6.81	342.00 ± 5.19
090	256.99 ± 9.09	385.40 ± 13.16	248.50 ± 9.08	373.31 ± 8.31
100	265.87 ± 9.01	406.82 ± 13.68	259.14 ± 7.37	393.44 ± 10.15
110	275.15 ± 8.88	426.10 ± 11.59	268.63 ± 7.36	410.33 ± 4.02
120	282.12 ± 8.39	442.27 ± 13.7	278.25 ± 6.34	424.00 ± 7.32
130	287.85 ± 9.8	454.24 ± 8.42	284.25 ± 7.17	434.38 ± 7.46
140	293.97 ± 12.13	441.37 ± 8.96	290.56 ± 9.11	438.63 ± 8.28

* en gramos

INGESTA DE AGUA

La ingesta de agua de ambos grupos a diferentes edades se muestra en la tabla 2. Estos datos demuestran que no hubo diferencias significativas en el consumo de agua entre ambos grupos ($p < 0.05$).

Tabla 2. INGESTA DE AGUA*

	GRUPO CONTROL		GRUPO EXPERIMENTAL	
	MACHOS	HEMBRAS	MACHOS	HEMBRAS
<i>padres</i>	44.30 ± 1.09	46.00 ± 4.19	45.9±5.35	48.1±5.49
<i>Mamá / crías</i>		103.00 ± 8.92		93.00±7.09
<i>crías</i>	24.2 ± 6.82	27.50 ± 2.72	22.4±1.94	19.7±1.37
<i>adultos</i>	43.12 ± 5.23	36.92 ± 2.11	39.33±1.42	37.71±2.32

* en mililitros

ESTUDIO CONDUCTUAL

Laberinto de Barnes

Las ratas de ambos grupos fueron capaces de realizar el laberinto de Barnes, es decir que tanto las ratas del grupo control como las del grupo experimental fueron eventualmente exitosas en ejecutar correctamente la tarea aunque el tiempo para lograrlo fue diferente.

Para analizar los resultados de esta prueba se promedió el tiempo de ejecución en los dos ensayos diarios que conformaron una sesión para cada sujeto. Después se promedió el tiempo obtenido en cada sesión de todos los sujetos que conformaron cada uno de los grupos y se obtuvieron los siguientes resultados.

El tiempo promedio que tardaron las ratas intoxicadas con Pb en ejecutar la tarea ($\bar{x} = 75.46 \pm 50.43$ seg) fue significativamente mayor ($t_{Student} = -2.959$; $p < 0.0058$) que el que tardaron las ratas del grupo control ($\bar{x} = 32.46 \pm 32.34$ seg).

Si se comparan los tiempos promedio de cada sesión se observa que estadísticamente hubo una diferencia significativa ($F_{(1,32)} = 8.75$; $p < 0.0058$) en la ejecución de ambos grupos, la cual se debe a una diferencia en la ejecución de las primeras cuatro sesiones en la primera fase del experimento y a las primeras tres en la fase de reversibilidad espacial (Tukey $p < 0.05$), estos datos se muestran en la figura 1.

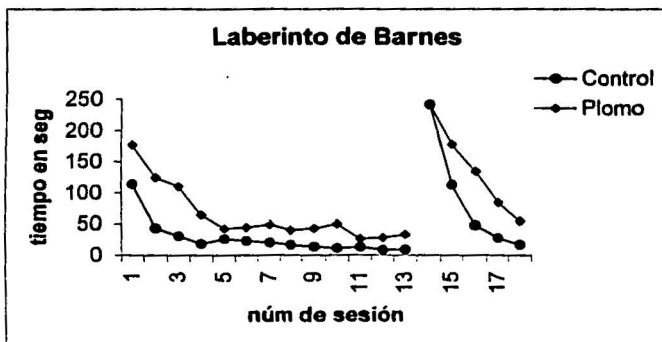
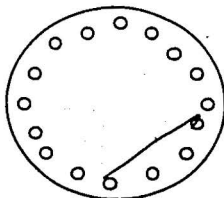


Figura 1.- Resultados obtenidos en el laberinto de Barnes para ambos grupos.

En el laberinto de Barnes también se comparó el número de veces que las ratas pasaron por el centro, se consideró pasar por el centro cuando las ratas se desplazaban de un punto a otro de la plataforma sin inspeccionar al menos dos agujeros consecutivos. Esto se ilustra en la figura 2. El promedio obtenido de número de veces que las ratas pasaron por el centro para el grupo control fué de 21.118 ± 23.884 y para el grupo experimental 27.147 ± 20.512 . Esta diferencia estadísticamente no fué significativa ($p(t = -0.790) = 0.2178$). La comparación de los promedios para cada sesión se muestran en la Fig 3.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 2.- Se muestra como se consideró que una rata pasaba por el centro.

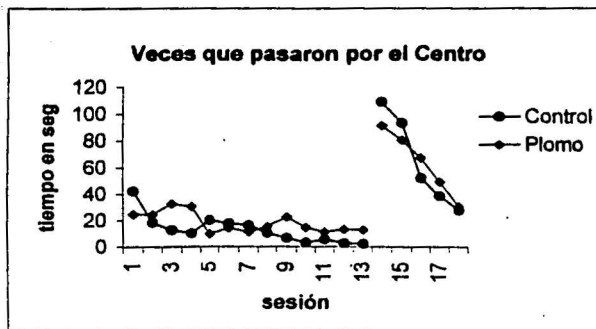


Figura 3.- Se muestran los promedios para cada sesión de veces que las ratas pasaron por el centro.

El promedio de agujeros visitado por las ratas antes de encontrar el agujero meta se muestra en la figura 4. La media obtenida por el grupo control ($\bar{x}=64.529 \pm 47.834$) fue estadísticamente menor que la media del grupo experimental ($\bar{x}=99.471 \pm 53.468$) t de Student = -2.008; $p < 0.02$. Al comparar los promedios obtenidos por cada uno de los grupos para cada una de las sesiones también se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($F_{(1,32)} = 4.03$; $p < 0.05$).

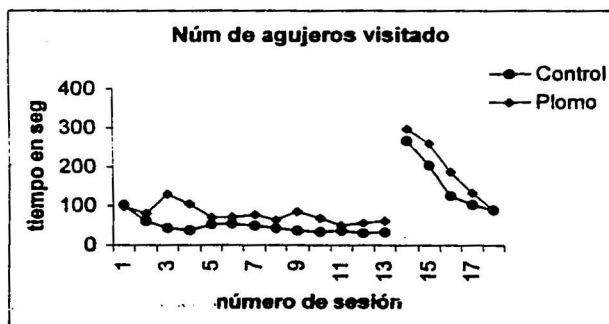


Figura 4.- Muestra el promedio para cada sesión de número de agujeros visitado por las ratas antes de encontrar el agujero meta.

LABERINTO DE AGUA

Al igual que en la prueba de Barnes las ratas de ambos grupos fueron capaces de lograr la ejecución correcta del laberinto de agua. Aunque el tiempo promedio para ejecutar el test no fue diferente entre ambos grupos, al comparar el número de veces que los sujetos escogían el carril equivocado para salir del laberinto (número de errores), la ejecución de las ratas del grupo experimental (17.35 ± 4.39) fue más pobre ($p (t = -4.798) = 0.000$) comparada con el grupo control (12.45 ± 6.57); lo que indica que las ratas intoxicadas con Pb cometieron más equivocaciones, estos resultados se muestran en la figura 5. El tiempo promedio para ejecutarlo fue de 31.47 ± 15.49 segundos para el grupo control y de 35.47 ± 18.46 segundos para el grupo experimental; estos resultados se muestran en la figura 6. Esta diferencia estadísticamente no fue significativa ($p (t = -1.285) = 0.201$).

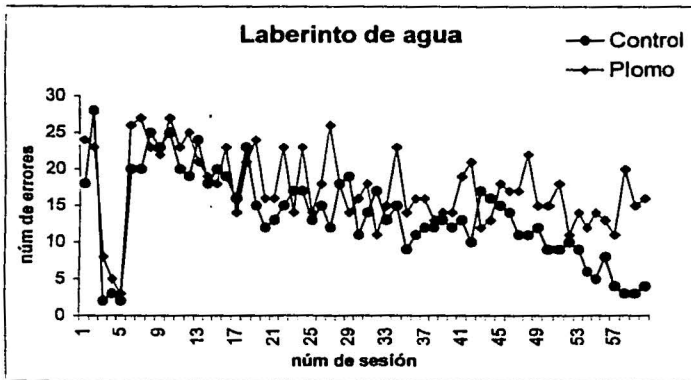


Figura 5.- Promedio de errores por sesión para el grupo control y experimental.

CON
FALLA DE ORIGEN

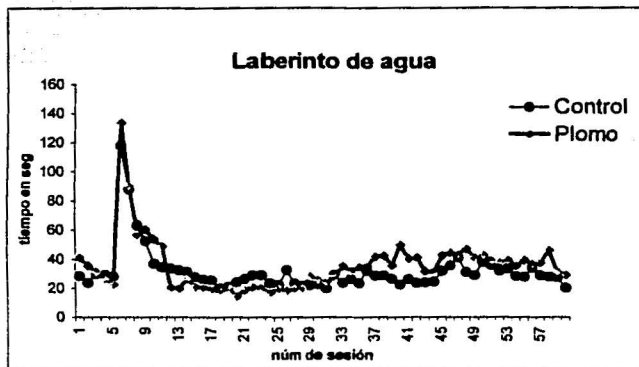


Figura 6.- Tiempo promedio para ejecutar la prueba del laberinto de agua.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTUDIO HISTOLOGICO

Al realizar el estudio histológico no se encontraron anomalías macroscópicas tales como ausencia o atrofia de alguna estructura cerebral en ninguno de los cerebros de las ratas tanto del grupo control como del grupo experimental; sin embargo, al realizar el estudio microscópico sí se encontraron diferencias entre los tejidos cerebrales de las ratas del grupo control y del grupo experimental, principalmente en los centros germinales periventriculares, estructuras transitorias donde se realiza la proliferación de los neuroblastos que migrarán ayudados por las células gliales para conformar el tejido cerebral adulto, así como también en la neocorteza, la paleocorteza y la corteza cerebelar.

En los hemisferios cerebrales se observó en el grupo experimental un mayor tamaño de los centros germinales periventriculares, en comparación con el grupo control a la edad de 10 y 20 días (figuras 7 y 8) mismos que continuaron activos en las ratas intoxicadas con Pb hasta la edad de 30 días mientras que en los cerebros de las ratas del grupo control a esa misma edad prácticamente ya habían desaparecido, esto indica un retraso en la migración celular de los neuroblastos desde la zona proliferativa hacia su destino final en alguna de las capas que conforman la corteza cerebral.

En el tejido de ambos grupos se observó la estratificación neocortical de seis capas así como la presencia de los diferentes componentes celulares que conforman dicho tejido: neuronas piramidales, fusiformes, estrelladas de Martinotti, de Cajal-Retzius así como células gliales; sin embargo, la neocorteza de los animales experimentales fue más delgada que la de los animales del grupo

control. Además de esta diferencia en el grosor neocortical se observó desarreglo citoarquitectónico (figuras 9 y 10) manifestado por el desorden en las láminas corticales sobretudo en las capas IV y V que corresponden a la capa granular interna y a la capa ganglionar o de grandes células piramidales respectivamente. También se observaron neuronas con diferentes grados de rotación, sobretudo en la capa VI (polimórfica o multiforme), que variaron desde neuronas normalmente orientadas hasta neuronas totalmente invertidas con su axón orientado hacia la capa molecular (Capa I). En la sustancia blanca de los animales intoxicados se observó gran número de neuronas subcorticales a la edad de 20 y 30 días, conformadas por neuroblastos que no migraron hasta su posición final dentro de la corteza cerebral. En cuanto a los elementos celulares, la técnica de Golgi mostró en las neuronas del neocortex la presencia de ramificaciones dendríticas escasas que fue más evidente en las células piramidales de las capas III y V, esta disminución dendrítica se observó tanto en la dendrita apical la cual puede ascender hasta la capa molecular y dar colaterales en los estratos que atraviesa así como en las dendritas basales que emergen de la base del cuerpo celular y que se distribuyen en sentido horizontal en la capa cortical en que se halla el soma. Las espinas dendríticas de las células piramidales de las capas III y V fueron más escasas en los animales intoxicados en comparación con los animales del grupo control. Dichas espinas son un componente estructural importante de la neurona ya que en ellas se establecen contactos sinápticos que pueden llegar a ser miles en una sola célula.

La formación hipocámpica, constituida por arquipalio, presente en el tejido cerebral de los animales intoxicados algunas alteraciones microscópicas. El giro dentado presentó conformación trilaminar en ambos grupos (capa molecular, granular y polimórfica), en cuanto a sus elementos celulares en las ratas intoxicadas con Pb se observó menor número de neuronas piramidales en la capa granular así como menor número de ramificaciones dendríticas y disminución de espinas en estas mismas células. En el asta de Ammon no se observó desarreglo citoarquitectónico en su conformación trilaminar, pero sí arborización dendrítica escasa de las células piramidales sobretudo en los sectores CA3 y CA4.

El cerebelo de ambos grupos no presentó alteraciones macroscópicas en cuanto a la conformación normal de los lóbulos y las folias. En el estudio microscópico se observó la conformación trilaminar de la corteza cerebelar en ambos grupos; sin embargo, el grupo experimental presentó migración neuronal retardada de los neuroblastos de la capa granular externa a la capa granular, esta capa persistió hasta la edad de 30 días en el grupo experimental (figuras 11 y 12). La capa granular externa constituye una entidad transitoria de donde migran neuroblastos que se dirigen desde la periferia hacia el centro para formar la capa granular del cerebelo; una vez que migran su lugar será ocupado por las dendritas de las células de Purkinje, las células en cesta y estrelladas así como por las fibras paralelas y trepadoras.

Las folias cerebelares de ambos grupos presentaron todos los elementos celulares que conforman el tejido cerebeloso: células de Purkinje y Golgi, en cesta,

estrelladas y granulares. En el tejido de las ratas del grupo experimental se observaron neuronas ectópicas de Purkinje en la capa granular, aunque este hallazgo también se observó en los controles pero en menor proporción. Las células de Purkinje tenían un árbol dendrítico escaso y reducción de espinas dendríticas (figuras 13 y 14), la capa ganglionar o de células de Purkinje formada por estas neuronas dispuestas en un solo estrato era irregular en el tejido de las ratas del grupo intoxicado. La mielinización se afectó difusamente, esto es se encontraron zonas sin mielina en la sustancia blanca del cerebelo de las ratas del grupo experimental.

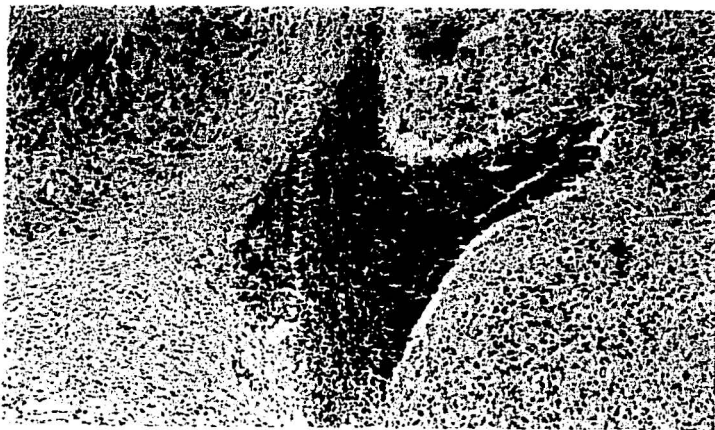


Figura 7.- Centro germinal periventricular. Rata experimental de 20 días.
Técnica: Nissi con Violeta de Cresilo.

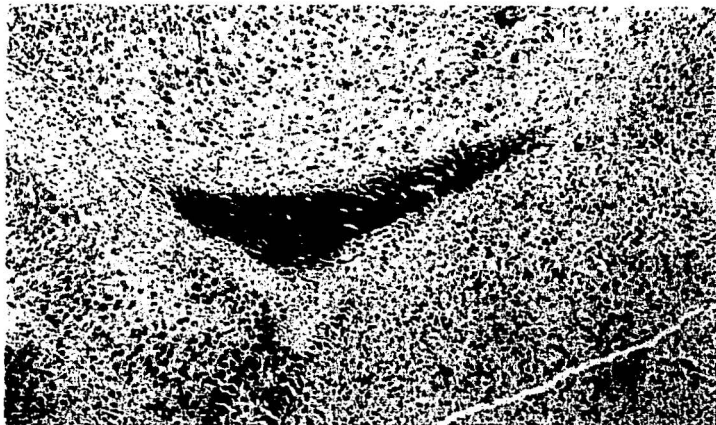


Figura 8.- Centro germinal periventricular. Rata control de 20 días.
Técnica: Nissi con Violeta de Cresilo.

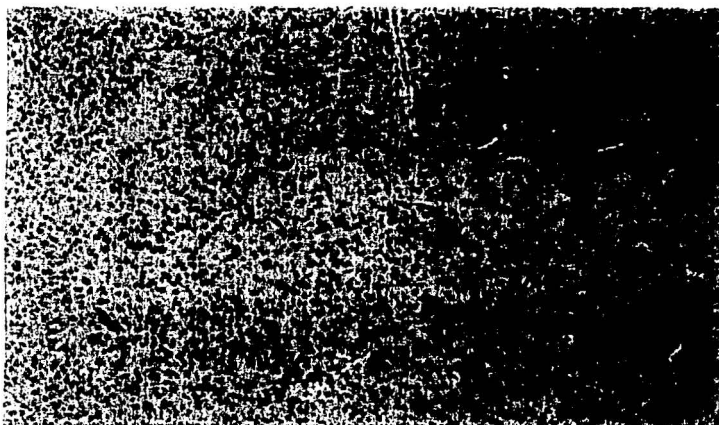


Figura 9.- Neocorteza cerebral con desarreglo citoarquitectónico de las seis capas corticales. Rata experimental de 30 días. Técnica: Nissl con Violeta de Cresilo.

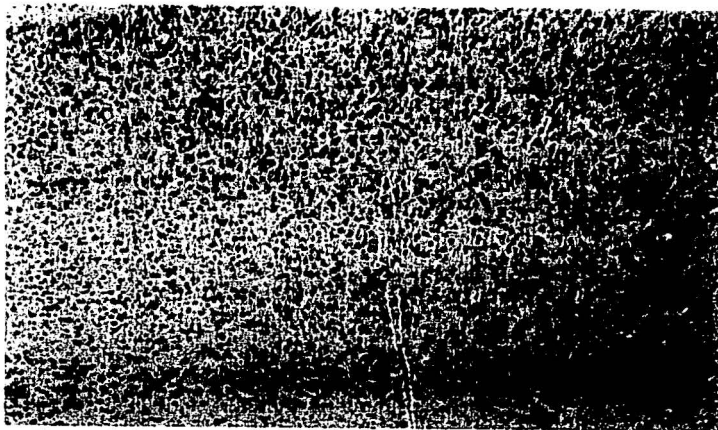


Figura 10.- Neocorteza cerebral que muestra las seis capas corticales. Rata control de 30 días. Técnica: Nissl con Violeta de Cresilo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

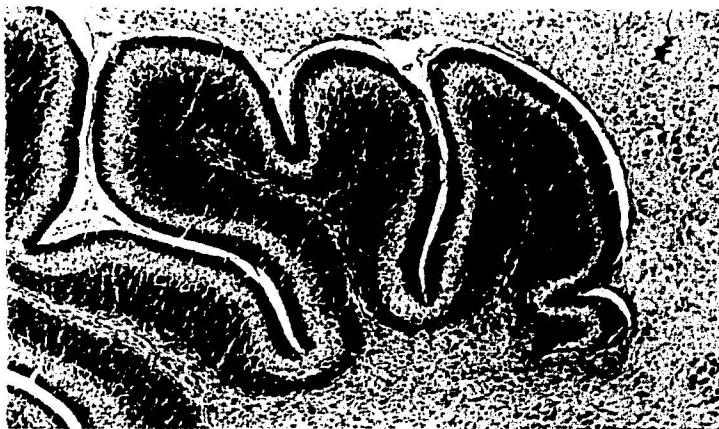


Figura 11.-Corteza cerebelosa con retardo en la migración de neuroblastos situados en la capa granular externa. Rata experimental 20 días. Técnica: Nissl



Figura 12.- Corteza cerebelosa. Rata control 20 días.
Técnica: Nissl con Violeta de Cresilo.



Figura 13.- Célula de Purkinje con retardo en el desarrollo del árbol dendrítico. Rata de 20 días. Técnica de Golgi.

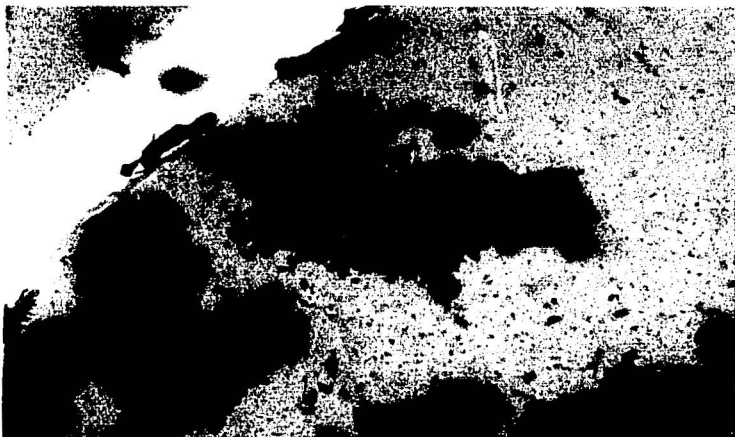


Figura 14.- Célula de Purkinje de la corteza cerebelosa. Rata control de 20 días. Técnica de Golgi.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISCUSION

El interés en la intoxicación por Pb no ha declinado a pesar de que los niveles atmosféricos de este metal se han decrementado drásticamente con la prohibición del uso de gasolinas con aditivos de Pb (Lacy, 1993). Este interés se ha mantenido debido a la urgente necesidad de delinear los mecanismos que subyacen a los déficits cognoscitivos observados en niños con niveles de Pb en sangre tan bajos como 10µg/dl (Needleman et al., 1990), niveles mucho menores de lo que previamente se pensaba que eran tóxicos. Se sabe que la exposición a bajos niveles de Pb durante el desarrollo trae consigo déficits de aprendizaje y memoria en niños (Needleman et al., 1990; Muñoz et al., 1993), datos que se han corroborado en estudios con animales experimentales (Lilienthal et al., 1990). La evidencia obtenida sugiere que muchos de los sitios sensibles al Pb desempeñan un papel crucial en la memoria y aprendizaje sobretodo de tipo espacial, posiblemente ligado al efecto inhibitorio que ejerce este metal sobre la función de los receptores NMDA; numerosos hallazgos neuroanatómicos, neurofisiológicos y neuroquímicos respaldan este hecho (Barnes, 1988; Alkondon et al., 1990).

En el presente trabajo se observó que la intoxicación crónica con Pb durante la vida prenatal y postnatal trae consigo problemas para ejecutar tareas que involucran aprendizaje y memoria espacial.

En el laberinto de Barnes las ratas de ambos grupos fueron capaces de ejecutar la tarea, aunque el tiempo promedio para hacerlo fue significativamente menor en el grupo control, lo que indica que las ratas de este grupo localizaron más rápidamente el compartimento oscuro, hecho que se relaciona con el número de errores cometidos durante la ejecución, dado que el equivocarse de agujero implica explorar mayor número de éstos y recorrer mayor superficie de la plataforma y aumentar el tiempo para localizar el agujero meta. Esta diferencia en el tiempo de ejecución se presentó al inicio de los ensayos tanto de la primera fase como de la fase de reversibilidad, esto indica que las ratas del grupo experimental si fueron capaces de ejecutar el laberinto de Barnes el cual involucra el manejo de información de tipo espacial, aunque les toma mayor número de ensayos igualar la ejecución del grupo control; esto es, las ratas del grupo experimental al principio de la tarea tardaron más tiempo en localizar el cajón pero en el transcurso de los ensayos fueron mejorando su ejecución y con un número suficiente de repeticiones fueron capaces de igualar el tiempo de ejecución de las ratas del grupo control.

El hecho de que se igualaran los tiempos de ambos grupos al transcurrir las sesiones da pauta para descartar variables como alteraciones motoras que disminuyera la velocidad de desplazamiento de los animales intoxicados, en cuyo caso la diferencia en el tiempo de ejecución de la tarea sería atribuible a una variable motora y no a variables que se relacionen con el proceso de memoria espacial.

El rotar la mesa aseguró que los animales no se guiaran por rastros olfativos sino por claves espaciales del entorno en el que se encontraba ubicada la plataforma.

Un dato importante de subrayar es que la desviación estándar del grupo control fue menor que la del grupo experimental, hallazgo que refleja el hecho de que las ratas del grupo control ejecutaron la prueba de manera más homogénea mientras que las ratas del grupo experimental presentaron déficits variables en la ejecución de la prueba (Cory-Siechta y Thompson, 1979; Cory-Siechta et al., 1981).

En esta misma prueba que involucra procesos de memoria espacial además de cronometrar el tiempo de ejecución de la tarea se registraron el número de agujeros visitado por las ratas antes de localizar el compartimento meta y también el número de veces que pasaban por el centro, estos datos dan una idea de la forma en que los sujetos se comportaron durante la ejecución de la prueba. En los ensayos iniciales las ratas tienden a explorar muchos agujeros incorrectos y pasar muchas veces por el centro. Con la experiencia que adquieren en la plataforma la búsqueda se vuelve más sistemática, de agujero en agujero, por lo que las veces que las ratas pasan por el centro decrece, así como el número de agujeros visitado. En los ensayos finales muchas ratas van directamente a la meta o uno o dos agujeros alrededor de esta y exploran sistemáticamente los agujeros por lo que el número de veces que pasan por el centro es prácticamente cero. Las ratas del grupo control visitaron menos número de agujeros que las ratas del grupo experimental, hecho que indica que las ratas no intoxicadas iban directamente al agujero meta o agujeros muy próximos a él por lo cuál, lógicamente, el número de agujeros que tenían que explorar para localizar la meta fue menor.

En cuanto al número de veces que las ratas pasaron por el centro no hubo diferencias entre ambos grupos lo que indica que la forma de ejecución no presentó variación, es decir, ambos grupos realizaron los primeros ensayos de manera azarosa y los últimos de manera sistemática. En las figuras 3 y 4 se observa que el número de veces que las ratas pasaron por el centro así como el número de agujeros visitado fue mucho mayor en la fase de reversibilidad (sesión 14) que en la sesión inicial del experimento en ambos grupos. Esto se debe a que las ratas al inicio de la prueba eran muy jóvenes (20 días) por lo que su capacidad de desplazamiento era menor que al ejecutar la sesión 14 en la cual aproximadamente tenían 35 días de edad por lo que habían aumentado casi al doble su tamaño (ver tabla 1), y con ello su capacidad y velocidad para desplazarse, hecho que pudo influir en que las ratas de ambos grupos no pasaran en muchas ocasiones por el centro de la plataforma en la primera fase de la prueba, en comparación con la fase de reversibilidad.

La prueba en el laberinto de agua constó de 60 sesiones dada la dificultad que mostraron los sujetos de ambos grupos para ejecutar correctamente la tarea. En esta prueba no se observaron diferencias en el tiempo de ejecución entre ambos grupos, esto indica que tanto las ratas intoxicadas con Pb como las ratas no intoxicadas tardaron el mismo tiempo en salir del recipiente con agua, por lo que se puede deducir que no se presentó diferencia en la capacidad de

desplazamiento dentro del agua en las ratas de ninguno de los dos grupos. Así, todos los animales desarrollaron la habilidad para nadar y desplazarse en el agua, así como también aprendieron que en el laberinto había un lugar por el cuál podían salir pero dicho lugar cambiaba de sesión a sesión.

Al comparar el número promedio de errores obtenido por cada grupo la diferencia resulto estadísticamente significativa. Como error se consideró que las ratas nadaran por el carril sin salida, aunque, tenían la posibilidad de regresar y nadar por el carril correcto para salir del laberinto, este hecho representó una falta de contingencia entre elegir el carril sin salida y un castigo, lo cual influyo en el tiempo de adquisición de la tarea, ya que si se hubiera implementado un castigo como el confinamiento, un choque eléctrico o dar por terminada la sesión y repetirla, probablemente se hubiera reducido el tiempo de adquisición.

Las ratas de ambos grupos inicialmente realizaron la tarea de manera azarosa, es decir nadaban por el carril central, giraban a la derecha o a la izquierda azarosamente o incluso por el mismo carril central y si se equivocaban regresaban por el otro carril o intentaban salir por las orillas del laberinto. En esta etapa, el estímulo luminoso no proporcionaba información a los sujetos a cerca de la localización de la salida. Con el paso de las sesiones nadaban por el carril central, se detenían (alcanzaban el piso) y después giraban a la derecha o a la izquierda de acuerdo a la presencia o ausencia del estímulo luminoso. Las ratas del grupo experimental mantuvieron la manera inicial de realizar la tarea por más tiempo, por lo que al nadar por un carril equivocado y regresar empleaban el mismo tiempo que las ratas del grupo control que se detenían en el carril central antes de elegir. Si se observa la figura 6 fue hasta la sesión 40 aproximadamente que la ejecución de los sujetos del grupo control dejo de ser azarosa (promedio del grupo menor a 20 errores que equivale a -50%), el grupo intoxicado mostró durante casi todo el estudio una ejecución azarosa (20 errores o más por sesión en promedio de todo el grupo, que equivale al 50%), sin embargo las ratas de ambos grupos fueron capaces de aprender que la salida se encontraba en los carriles laterales ya que en esta etapa raras veces regresaban al carril central por lo que casi siempre fueron capaces de salir del laberinto en los 4 minutos que duraba la prueba.

En esta prueba el grupo experimental también obtuvo una desviación estándar mucho mayor que el grupo control y aunque hubo diferencias en la ejecución de la prueba entre ambos grupos se requerirían estudios mucho más detallados para poder delinear con precisión que elemento o elementos del complejo proceso del aprendizaje se ven afectados por la intoxicación con Pb.

En cuanto al estudio histológico, el presente trabajo no proporciona niveles de Pb en el tejido cerebral ni en la sangre de los individuos, por lo que no se sabe cuanto del Pb ingerido fue desechado en las heces fecales o en la orina y cuanto se deposito en diferentes tejidos del organismo, en especial en el cerebro, sin embargo este estudio si proporciona algunos datos descriptivos de cómo afecta la intoxicación por Pb la conformación del tejido cerebral.

El cerebro es un tejido diseñado para la modificación continua aún en la edad adulta tal como ocurre en los procesos de aprendizaje y memoria. Esta modificación continua se da por la adición y pérdida de sinapsis, hecho que refleja uno de los mayores logros de la evolución del SN: optimizar el comportamiento de los individuos en un ambiente dado. Los contactos sinápticos a través de toda la vida del individuo se refinan o se eliminan en un proceso dinámico que se ve influido por múltiples factores que van desde lo genético hasta lo ambiental (Edelman, 1985; Steller, 1995). El Pb es uno de esos factores ambientales cuya acción tóxica influye en la conformación y funcionamiento del tejido cerebral (Silbergeld, 1992).

El estudio histológico mostró que la intoxicación por Pb interfiere con la ontogénesis normal del cerebro y dado que este proceso esta regido por períodos críticos para llevarse a cabo, los déficits en la conformación del tejido cerebral pueden persistir hasta la vida adulta (Edelman, 1985; Silbergeld, 1992).

En el grupo experimental se observó persistencia de los centros germinales periventriculares en el cerebro a edades en las que ya debían de haber desaparecido, lo cuál es un indicador de retardo en el desarrollo, que involucra ya sea la proliferación y/o la migración neuronal (Jacobson, 1978). Este mismo retraso también se observó en el cerebelo manifestado por la persistencia de la capa granular externa en las ratas del grupo experimental.

Una vez que los neuroblastos han migrado con ayuda de las células gliales a su posición final dentro del tejido cerebral deben diferenciarse y establecer los contactos sinápticos para su adecuado funcionamiento (Jacobson, 1978; Hatten, 1990). Los elementos celulares de las ratas del grupo experimental mostraron menor desarrollo de su arborización dendrítica, este hecho fue observado en las neuronas piramidales de la neocorteza, las neuronas piramidales de la formación hipocámpica, tanto del giro dentado como del asta de Ammon así como en las células de Purkinje del cerebelo. Esta disminución sináptica puede traer como consecuencia grave deficiencia en la recepción y la integración de la información. También se observó en las ratas del grupo experimental disminución de las espinas dendríticas, las cuáles determinan el tamaño del campo receptivo de una neurona y la transmisión de potenciales sinápticos al cuerpo neuronal.

En cuanto a la organización de la neocorteza, en el grupo experimental se observaron neuronas con diferentes grados de rotación así como alteraciones arquitectónicas en la estratificación normal de seis capas, lo cual puede originar conectividad neuronal disfuncional, la cuál puede persistir hasta la vida adulta.

En el tejido cerebral de las ratas intoxicadas con Pb también se observó retardo en la mielinización de las fibras tanto en los hemisferios cerebrales como en el cerebelo, este hecho afecta la eficacia de la conducción de los potenciales de acción, por lo menos al reducir la velocidad de conducción. Este retardo en la mielinización puede ser consecuencia de la migración celular retardada de los oligodendrocitos, los cuales migran después de las neuronas (Jacobson, 1978).

Todas estas alteraciones morfológicas intervienen en la fisiología cerebral y por lo tanto en la conducta de los individuos, sin embargo, las diferencias encontradas en este estudio en la ejecución de las tareas entre ambos grupos no pueden ser explicadas totalmente por alteraciones anatómicas del tejido cerebral, ya que se sabe que el Pb además afecta mecanismos neurofisiológicos y neuroquímicos que requieren estudios más precisos para poder delinearse (Goldstein, 1992). Sin embargo, podemos afirmar que las alteraciones anatómicas fueron concomitantes con los déficits observados en el presente estudio en el grupo experimental en la ejecución del laberinto de Barnes el cual involucra información espacial y en la ejecución de un laberinto de agua que involucró la discriminación de la presencia o ausencia de un estímulo luminoso.

CONCLUSIONES

La intoxicación con Pb durante la vida prenatal y postnatal aumentó el tiempo de ejecución del laberinto de Barnes de manera significativa aunque no impidió la ejecución del mismo y también alteró el modo de ejecución al aumentar el número de agujeros que las ratas exploraban antes de encontrar la meta.

La intoxicación con Pb también alteró la manera de ejecución de un laberinto lleno de agua, donde los sujetos debían diferenciar la presencia o ausencia de un estímulo luminoso para girar a la derecha o a la izquierda y salir del laberinto. En esta prueba se observó mayor número de errores en la ejecución en el grupo intoxicado con Pb, aunque no se observaron diferencias en el tiempo de ejecución de la prueba entre el grupo experimental y el grupo control.

La exposición con Pb durante el desarrollo fetal alteró la citoarquitectura del cerebro. El Pb principalmente retrasó el desarrollo y la migración neuronal, disminuyó el número de neuronas, así como también el número de ramificaciones y espinas dendríticas en diferentes partes del cerebro, alteró el proceso de mielinización y modificó el arreglo arquitectónico de las diferentes capas que conforman el tejido cerebral. Estas alteraciones se observaron principalmente en la neocorteza, el hipocampo y la corteza cerebelosa.

PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO

Si consideramos que el estudio de la intoxicación por plomo no solo ayuda a conocer como funciona el SNC intoxicado por este metal sino incluso ayuda a ampliar nuestros conocimientos del funcionamiento y desarrollo del tejido cerebral en sí, este trabajo puede continuarse y en estudios futuros se sugiere manipular variables como dosis, tiempo de exposición y edad a la que los sujetos se intoxicaron.

También se sugiere realizar modificaciones a las pruebas conductuales, en el laberinto de Bames podría incluirse un tiempo de interferencia variable y evaluar la ejecución de las ratas en el laberinto después de este periodo, evaluarlas hasta la edad adulta y reducir el número de sesiones. En el laberinto de agua podría implementarse un castigo al elegir el carril equivocado, disminuir el número de sesiones y comenzar a entrenar a los sujetos a mayor edad.

En estudios posteriores se podrían evaluar otras conductas que no han sido estudiadas bajo la acción tóxica del plomo, entre estas conductas se incluyen hiperactividad, estudios de sueño, juego e ingesta de alimento.

Además se deberá incluir el uso de equipo computarizado, cámaras fotográficas y de video para realizar análisis más objetivos de los resultados obtenidos en las pruebas conductuales y poder medir incluso velocidad de desplazamiento y trayectoria exacta de las ratas en los laberintos.

En el estudio histológico deberá cuantificarse el número de neuronas, dendritas y espinas dendríticas, ampliarse las observaciones a otras estructuras cerebrales y emplearse técnicas de inmuno-histoquímica, biología molecular y genética molecular.

REFERENCIAS

- o Alfano D, LeBoutillier J y Petit T. (1982). Hippocampal mossy fiber pathway development in normal and postnatally lead-exposed rats. *Exper Neurol.* 75: 308-319.
- o Alfano D y Petit T. (1982). Neonatal lead exposure alters the dendritic development of hippocampal dentate granule cells. *Exper Neurol.* 75: 275-288.
- o Alfano D, Petit T y LeBoutillier J. (1983). Development and plasticity of the hippocampal-cholinergic system in normal and early lead exposed rats. *Develop Brain Res.* 10: 117-124.
- o Alkondon M, Costa A, Radhakrishnan V, Aronstam R y Albuquerque E. (1990). Selective blockade of NMDA-activated channel currents may be implicated in learning deficits caused by lead. *FEBS.* 261: 124-130.
- o Altmann L, Weinsberg F, Sveinsson K, Lilienthal H, Wiegand H y Winneke G. (1993). Impairment of long-term potentiation and learning following chronic lead exposure. *Toxicol Letters.* 66: 105-112.
- o Angell N y Weiss B. (1982). Operant behavior of rats exposed to lead before or after weaning. *Toxicol Appl Pharmacol.* 63: 62-71.
- o Aungst B y Fung H. (1985). The effects of dietary calcium on lead- absorption, distribution and elimination kinetics in rats. *J Toxicol Environ Health.* 16: 147-159.
- o Barnes CA. (1979) Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J.Compar. Physiol. Psychol* 93;1: 74-104.
- o Barnes CA. (1988) Spatial learning and memory: the search for their neurobiological mechanisms in the rat. *TINS* 11; 4: 163-169.
- o Bellinger D, Leviton A, Watermaux C, Needleman H y Rabinowitz M. (1987). Longitudinal analyses of prenatal and postnatal lead exposure and early cognitive development. *N Engl J Med.* 316: 1037-1043.
- o Benítez-Bribiesca L. (1995). La apoptosis en la patogenia y el tratamiento de la enfermedad. *Gac Med Mex.* 131: 231-232.
- o Bermúdez-Rattoni F. (1998). Codificación de la memoria. *Ciencia* 49; 2: 23-28.
- o Bhattacharya A, Shukla R, Dietrich K, Bornschein R y Berger O. (1995). Effect of early lead exposure on children's postural balance. *Dev Med Child Neurol.* 37: 861-878.
- o Bressler J y Goldstein G. (1991). Mechanism of lead neurotoxicity. *Biochem Pharmacol.* 41:479-484.
- o Campell J, Wooley D, Vijayan V y Overmann S. (1982). Morphometric effects of postnatal lead exposure on hippocampal development of the 15-day-old rat. *Develop Brain Res.* 3: 595-612.
- o Carroll P, Silbergeld E y Goldberg A. (1977). Alteration of central cholinergic funtion by chronic lead acetate exposure. *Biochem Pharmacol.* 26: 397-402.

- o Cahero G. (1992). Evaluación de la neurotoxicidad del plomo en el sistema serotoninérgico de la rata. Tesis licenciatura. Facultad Química, UNAM. México. 82 pp.
- o Chisolm J. (1971). Lead poisoning. *Sci Amer.* 224 : 15-23.
- o Collingridge GL y Bliss TV. (1987). NMDA receptors - their role in long-term potentiation. *TINS.* 10;7:288-293.
- o Conradi N, Kalimo H y Sourander P. (1990). Cerebellar capillarization in lead-exposed suckling rats. *Acta Neurol Scand.* 81 : 256.
- o Cory-Slechta D y Thompson T. (1979). Behavioral toxicity of chronic postweaning lead exposure in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 47:151-159.
- o Cory-Slechta D, Bissen S, Young A y Thompson T. (1981). Chronic postweaning lead exposure and response duration performance. *Toxicol Appl Pharmacol.* 60: 78-84.
- o Cory-Slechta D, Weiss B y Cox C. (1983). Delayed behavioral toxicity of lead with increasing exposure concentration. *Toxicol Appl Pharmacol.* 71: 342-352.
- o Cory-Slechta D, Weiss B y Cox C. (1985). Performance and exposure indices of rats exposed to low concentrations of lead. *Toxicol Appl Pharmacol.* 78: 291-299.
- o Cory-Slechta D y Pounds J. (1995). Lead Neurotoxicity. pp 61-89. En: Chang Lw y Dyer RS. (ed). Handbook of Neurotoxicology. New York: Marcel Dekker Inc.
- o Daniel W. (1996). Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. México: Noriega. 878 pp.
- o Edelman G. (1985). Molecular regulation of neural morphogenesis. pp 35-59. En: Edelman G, Gall E, Cowan M. (eds). Molecular Bases of Neural Development. Neurosciences Institute Publication. New York. 606 pp.
- o Fielding J y Russo P. (1977). Exposure to lead: sources and effects. *N Engl J Med.* 297: 943-945.
- o Finkelman J. (1996). Phasing-out lead gasoline will not end lead poisoning in developing countries. *Environ Health Persp.* 104: 10-11.
- o Fjeringstad EJ, Danscher G y Fjeringstad E. (1974). Hippocampus: selective concentration of lead in the normal rat brain. *Brain Res.* 80: 350-354.
- o Freedman R, Olson L y Hoffer B. (1990). Toxic effects of lead on neuronal development and function. *Environ Health Persp.* 89:27-33.
- o Gilbert M, Marc C y Lasley S. (1996). Chronic developmental lead exposure increases the threshold for long-term potentiation in rat dentate gyrus in vivo. *Brain Res.* 736: 118-124.
- o Goldstein G, Asbury A y Diamond I. (1974). Pathogenesis of lead encephalopathy. *Arch Neurol.* 31: 382-389.
- o Goldstein G y Ar D. (1983). Lead activates calmodulin sensitive processes. *Life Sci.* 33: 1001-1006.
- o Goldstein G. (1990). Lead poisoning and brain function. *Environ Health Persp.* 89:91-94.

- o Goldstein G. (1992). Developmental neurobiology of lead toxicity. pp 125-135. En: Needleman, H. (ed). Human Lead Exposure. Boca Raton, Florida: CRC Press. 290 pp.
- o Gutowski M, Altmann L, Sveinsson K y Wiegand H. (1997). Postnatal development of synaptic plasticity in the CA3 hippocampal region of control and lead-exposed Wistar rats. *Develop Brain Res.* 98: 82-90.
- o Hatten M. (1990). Riding the glial monorail: a common mechanism for glial-guided neuronal migration in different regions of the developing mammalian brain. *TINS.* 13(5):179-184.
- o Holtzman D, Olson J, DeVries C y Bensch K. (1987). Lead toxicity in primary cultured cerebellar astrocytes and cerebellar granular neurons. *Toxicol Appl Pharmacol.* 89: 211-225.
- o Ishihara K, Alkondon M, Montes J y Albuquerque E. (1995). Ontogenically related properties of N-methyl-D-aspartate receptors in rat hippocampal neurons and the age-specific sensitivity of developing neurons to lead. *J Pharmacol Experi Therape.* 273 : 1459-1470.
- o Jacobson M. (1978). Developmental Neurobiology. (2ª. ed.). New York: Plenum Press. pp 57-114.
- o Jett D, Kuhlmann C y Guilarte T. (1996). Intrahippocampal administration of lead (Pb) impairs performance of rat in the Morris water maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 57 : 263-269.
- o Jett D, Kuhlmann C, Farmer S y Guilarte T. (1997). Age-dependent effects of developmental lead exposure on performance in the Morris water maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 57 : 271-279.
- o Kiraly E y Jones D. (1982). Dendritic spine changes in rat hippocampal pyramidal cells after postnatal lead treatment: a Golgi study. *Experimental Neurol.* 77: 236-239.
- o Komuro H y Rakic P. (1993). Modulation of neural migration by NMDA receptors. *Science.* 260 : 95-97
- o Lacy R. (1993). La Calidad del Aire en el Valle de México. (1ª. ed.). México: El Colegio de México. 87 pp.
- o Landrigan P y Curren A. (1992). Lead a ubiquitous hazard. *Environ Res.* 59:279-280.
- o Lasley S, Polan-Curtain J y Armstrong D. (1993). Chronic exposure to environmental levels of lead impairs in vivo induction of long-term potentiation in rat hippocampal dentate. *Brain Res.* 614: 347-351.
- o Lilienthal H, Winneke G y Ewert T. (1990) Effects of lead on neurophysiological and performance measures: animal and human data. *Environ Health Persp.* 89:21-25.
- o Linnamägi U y Kaasik A. (1995). Changes of local cerebral blood flow concomitant to lead-exposure in adult rabbits. *Acta Neurol Scand.* 92: 491-496.
- o Livingston K y Escobar A. (1971). Anatomical bias of the limbic system concept. *Arch Neurol.* 24: 17-21.
- o Lögdberg B, Brun A, Berlin M y Schütz A. (1988). Congenital lead encephalopathy in monkeys. *Acta Neurophatol (Berl).* 77: 120-127.

- o López-Antunez L. (1979). Anatomía Funcional del Sistema Nervioso. México: Limusa. 784 pp.
- o López R, Torres L, Garrido F, Papaqui J, Palazuelos E y López M. (1996). Prevalence and determinants of lead intoxication in Mexican children of low socioeconomic status. *Environ Health Persp.* 104: 117-123.
- o Markovac J y Goldstein G. (1988). Picomolar concentration of lead stimulate brain protein kinase C. *Nature.* 334: 71-73.
- o Markovac J y Goldstein G. (1988). Lead activates protein kinase C in immature rat brain microvessels. *Toxicol Appl Pharmacol.* 96 : 14-23.
- o Mateu S. (1994). Toxicología Médica. España: Doyma. 477 pp.
- o McCauley PT, Bullf RJ y Lutkenhoff SD. (1979). Association of alterations in energy metabolism with lead-induced delays in rat cerebral cortical development. *Neuropharmacology.* 18 : 93-101.
- o Mesch U, Lowenthal R y Coleman D. (1996). Lead poisoning masquerading as chronic fatigue syndrome. *Lancet.* 347: 1193.
- o Minnema D, Greenland R y Michaelson A. (1986). Effect of in vivo lead on dopamine release from superfused rat strial synaptosomes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 84: 400-411.
- o Minnema D, Michaelson I y Cooper G. (1988). Calcium efflux and neurotransmitter release from rat hippocampal synaptosomes exposed to lead. *Toxicol Appl Pharmacol.* 92: 351-357.
- o Molina G, Zuñiga M, Sánchez F y Garza R. (1979). Plomo: sus implicaciones sociales y efectos sobre la salud. *Gac Med Méx.* 115: 57-63.
- o Moorhouse S, Carden S, Drewitt P, Eley B, Hargreaves R, y Pelling D. (1988). The effect of chronic low level lead exposure on blood-brain barrier function in the developing rat. *Biochem Pharmacol.* 37: 4539-4547.
- o Moresco R, Dall'olio R, Gandolfi O, Govoni S, Giovine D y Trabucchi M. (1988). Lead neurotoxicity: a role for dopamine receptors. *Toxicology.* 53: 315-322.
- o Morris RG, Kandel ER y Squire LR. (1988). The neuroscience of learning and memory: cells, neural circuits and behavior. *TINS* 11; 4: 125-142.
- o Muñoz H, Romieu I, Palazuelos E, Mancilla T, Meneses F y Hernández M. (1993). Blood lead level and neurobehavioral development among children living in Mexico, City. *Arch Environ Health.* 48: 132-139.
- o Murphy K, Fox G y Kelly J. (1995). Influence of toxicants on neural cell adhesion molecule-mediated neuroplasticity in the developing and adult animal: persistent effects of chronic perinatal low-level lead exposure. *Toxicol Letters.* 82/83: 271-276.
- o Mykkanen H, Dickerson W y Lancaster M. (1979). Effect of age on the tissue distribution of lead in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 51: 447-454.
- o Needleman H, Rabinowitz M, Leviton A, Linn S y Schoenbaum S. (1984). The relationship between prenatal exposure to lead and congenital anomalies. *JAMA.* 251: 2956-2959.
- o Needleman H, Shell A, Bellinger D, Leviton A y Allred E. (1990). The long-term effects of exposure to low doses of lead in childhood. *N Engl J Med.* 322: 83-88.

- o Newland M, Yezhou S, Lögdberg B y Berlin M. (1994). Prolonged behavioral effects of in utero exposure to lead of methyl mercury: reduce sensibility to changes of reinforcement contingencies during behavioral transitions and in steady state. *Toxicol Appl Pharmacol*. 126: 6-15.
- o Newland M, Yezhou S, Lögdberg B y Berlin M. (1996). In utero lead exposure in squirrel monkeys: motor effects seen with schedule-controlled behavior. *Neurotoxicol Teratol*. 18: 33-40.
- o Quadri G y Sánchez L. (1992). La Ciudad de México y la Contaminación Atmosférica. México: Limusa. 316 pp.
- o Rakic P. (1972). Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. *J Comp Neurol*. 145:61-84.
- o Shih T y Hanin Y. (1978). Chronic lead exposure in immature animals: neurochemical correlates. *Life Sci*. 23: 887-888.
- o Silbergeld E. (1977). Interactions of lead and calcium on the synaptosomal uptake of dopamine and choline. *Life Sci*. 20: 309-318.
- o Silbergeld E. (1992). Mechanisms of lead neurotoxicity, or looking beyond the lamppost. *FASEB*. 6: 3021-3026.
- o Silbergeld E. (1992). Neurological perspective on lead toxicity. pp 90-103. En: Needleman H (ed). Human Lead Exposure. Boca Raton, Florida: CRC Press. 290pp.
- o Siles S. (1990). Concentración de plomo en mujeres embarazadas y su repercusión en el producto. Tesis especialidad de ginecología y obstetricia. Facultad de Medicina, UNAM, México. 38 pp.
- o Sosa J, Rodríguez A y Oscos J. (1997). Importancia de la determinación de plomo en la sangre. *Lab Med Chopo*. 6: 1-6.
- o Solliway B, Schaffer A, Erez A, Mittelman N, Pratt H y Yannai S. (1995). The effect of lead exposure on target detection and memory scanning differs. *J Neurol Sci*. 134: 171-177.
- o Sourander P, Conradi N y Lindh U. (1990). Accumulation of lead in the cerebellar white matter in lead-exposed suckling rats. A micro-PIXE study. *Acta Neurol Scand*. 81: 256.
- o Steller H. (1995). Mechanism and genes of cellular suicide. *Science*. 267: 1445-1449.
- o Strauss W y Mainwaring S. (1990). Contaminación del Aire: Causas, Efectos y Soluciones. (1ª. ed). México: Trillas. 177 pp.
- o Thienes C y Haley T. (1964). Clinical Toxicology. (4ª. ed.). USA: Lea and Febiger. pp. 136-145, 346-347.
- o Thompson C. (1995). Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*. 267: 1456-1462.
- o Ünđerger U, Basaran N, Canpinar H y Kansu E. (1996). Immune alterations in lead-exposed workers. *Toxicology*. 109: 167-172.
- o Varma M, Joshi S y Adenemi A. (1974). Mutagenicity and infertility following administration of lead sub-acetate to swiss male mice. *Experientia*. 30: 486-487.
- o Walsh T, Schulz D, Tilson H y Dehaven D. (1986). Acute exposure to triethyl lead enhances the behavioral effects of dopaminergic agonists: Involvement of brain dopamine in organolead neurotoxicity. *Brain Res*. 363: 222-229.

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

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**