ISBN 970-27-1045-6

ESTUDIO NEUROTOXICOLÓGICO EN EL HIPOCAMPO DE RATAS EXPUESTAS A LA INGESTA DE AGUA CONTAMINADA CON IONES PLOMO: UN ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Orta-Salazar Erika*, Franco-Rodríguez Nancy*, Flores-Luna Mónica*, Amaya-Gutierrez Maritza*, Feria-Velasco Alfredo*, Rivera-Cervantes Martha*, Reyes-Gómez Juan mrivera@cucba.udg.mx**

*Lab de Neurobiología Celular, Depto. de Biol. Cel y Mol., Cucba, Udg. **Facultad de Ciencias de la Universidad de Colima., Colima Acol., Mex.

Introducción

El plomo (Pb^{2+}) es un metal pesado que se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente, es un elemento sin ninguna función biológica en los organismos vivos. Los efectos tóxicos del Pb^{2+} han sido conocidos desde tiempos ancestrales.

Las principales vías de absorción del Pb^{2+} son el tracto gastrointestinal y el sistema respiratorio. El grado de absorción depende de varios factores entre los que se encuentran: el tamaño de la partícula, forma química, la solubilidad, el estado nutricional y la edad del sujeto expuesto. (Conrad M., 1978) (Schweinsber F,. 1990).

Se ha encontrado en el torrente sanguíneo alrededor del 90% de plomo asociado con los eritrocitos, al final el Pb^{2+} es encontrado en la membrana y citoplasma de los eritrocitos, aparentemente asociado con los polipéptidos de peso molecular bajo. (Kaplan M; 1973)

La neurotoxicidad por Pb^{2+} puede ser producto de pequeñas perturbaciones en el metabolismo del cerebro, como lesión a la barrera hematoencefálica, posible interferencia con la producción de óxido nítrico, peroxidación de lípidos intensificada. Estudios sobre la localización del Pb^{2+} en el sistema nervioso central no han determinado si hay una acumulación específica dentro de las regiones cerebrales más vulnerables por ejemplo la corteza cerebral e hipocampo. (Villeda J.,2001)

Los mecanismos de muerte celular desempeñan un papel importante durante el desarrollo y la homeostasis; éstos pueden ocurrir en dos secuencias de eventos diferentes: necrosis o apoptósis (Cohen J.1993). Ambos tipos de muerte celular pueden ser inducidos por un mismo agente en dependencia del tipo de célula y de las condiciones experimentales (Columbano A.1995).

La enzima ALA-D, en condiciones fisiológicas, es inactivada por Ca^{2+} la presencia de Pb^{2+} ejerce en ella una acción inhibitoria y en consecuencia la acumulación de ALA-D se ve implicada en la sobre-producción de especies reactivas de oxígeno. Varias líneas de investigación han demostrado que ALA-D en sangre es extremadamente sensible a la acción inhibitoria por envenenamiento por Pb^{2+}. Estudios *in vitro* han demostrado que el Pb^{2+}es un potente inhibidor de ALA-D, mientras que *in vivo* el efecto es menor (Rocha, J. et al.1995).

En ratas expuestas a Pb^{2+} durante el desarrollo, se valorado diferentes cambios en la función neural por ejemplo anormalidades en el crecimiento neural, así como en la expresión de receptores colinérgicos y en la funcionalidad del sistema glutamatérgico del hipocampo (Rossmanl N, 2001).

La susceptibilidad del sistema nervioso durante el desarrollo se debe a que este sistema, aun durante la etapa posnatal temprana, se encuentra en proceso de maduración ya que el establecimiento de la circuitería neuronal total se establece después de este periodo, la habilidad del Pb^{2+} para competir con la actividad funcional del ión Ca^{2+} y activar cascadas de señalización, como podrían ser las proteínas cinasas activadas por mitógenos pueden alterar la conducta de las células en el cerebro inmaduro (Bressler J.1999).

Además existen amplias evidencias que en animales jóvenes, la neurotoxicidad inducida por Pb^{2+} puede provocar el desarrollo de encefalopatías (Sündströn R.1985).

El objetivo del presente trabajo es evaluar los efectos del Pb^{2+} en el hipocampo, una region suceptible a daño neuronal, debido a la ingesta de agua contaminada con acetato de plomo. El estudio se centrará en analizar una de las vías de señalización intracelular involucradas en la muerte por apoptosis, en una etapa del desarrollo del SNC de alta vulnerabilidad a la neurotoxicidad, lo que permitirá proponer un posible mecanismo celular que indique como se regula el daño neuronal. Este mecanismo puede estar directamente involucrado en la producción de los síntomas que se presentan en personas intoxicadas con Pb^{2+}. Los resultados además permitirán establecer nuevas bases para el diseño alternativo de estrategias terapeúticas en condiciones de intoxicación por este metal.

Materiales y métodos

Se están utilizando ratas de la cepa Wistar, hembras gestantes de 60 días de edad, de las crías solo se utilizarán los machos para el estudio.

A las madres gestantes se les administra acetato de plomo vía oral, desde el primer día de gestación, continuando el tratamiento hasta después del nacimiento de las crías y hasta el día de sacrificio. Se les administra el acetato de plomo en el agua de beber, obteniendo tres grupos de estudio a los cuales se les da diferentes concentraciones que son 100, 500 y 1000 ppm, las ratas control recibirán agua.

Para evaluar los niveles de Pb^{2+} los animales se sacrifican a diferentes edades (1,3,5,7, 8,10 y 14 días de edad postnatal-EP), posteriormente se hace sangría total por el método de punción cardiaca y la sangre será colectada en tubos de polipropileno heparinizados. Del cerebro, se extraerá el hipocampo y corteza anterior que serán colectados en tubos de polipropileno. Los niveles de Pb^{2+} se están determinando por espectrofotometría de absorción atómica.

La evaluación del daño neuronal, se esta realizando exclusivamente a las edad de 4, 8 y 14 EP los animales se prefunden, vía intracardiaca; se extrae el cerebro y se incluye en parafina para obtener cortes histológicos, teñidos con el método de HE para observar el daño en hipocampo y corteza por microscopia de luz.

Referencias

Conrad M., Barton J. 1978.Factors affecting the absorotion and excretion of lead in the rat. Gastroento. 74:731-40.
Schweinsber F. ,Ven Karsal L.1990. Heavy metal concentrations in humans. Comp. Biochem Physiol. 95: 117-20.
Kaplan M., Jones A., Davis M. Kopito L. 1973. Life sci.16: 1545-54
Villeda J., Barrojo R.,Barroso R. Hernandez M., Nava C., Huerta R., Rios C. 2001. Peroxidation regional heightened front of the lipid of the batin of matter in the rats that become exposed t olead acetate of level low. Sciences of elseiver. Bolletin of the investigation of the brain. Vol. 55 N. 2. pp 247-51.
Cohen J. 1993. Apoptosis. Inmmunol Today. 14: 126-30
Columbano A. 1995.Cell death: Current difficulties in discriminating apoptis from necrosis in the contexto f pathological processes in vivo. J. Cell Biochem. 58: 181-90.
Rocha J.,Pereira M., Emanuell T., Christofari R., Souza D. 1995. Effect of treatment with mercury chlorid and lead acetate during the second stage of rapad postnatal brain growth on δ-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) activity in brain, liver, kidney and blood of sucking rats. Toxicology 100. 27-37.
Rossmanl N.200i. ciencias toxicologicas. 64.
Bressler J., Kyung-ah K., Tamal C., Goldstein g. 1999. Molecular mechanisms of lead neurotoxicity. Neurochem Res. 24: 595-600.
Südoström R. Mützing K., Kailimo H., sounrander. 1985. Changes in the integrity of the blood-brain barrier in suckling rats with low dose lead encephalopathy. Act. Neurophatol. 68:1-9.

Este trabajo fue financiado parcialmente por: Promep (proyecto 103.5/05/1655).