

LOS EFECTOS DEL ARSÉNICO EN EL DESARROLLO POSTNATAL DE LAS RATAS

Oscar René Fajardo Rodríguez¹
Dra. Ma. Magdalena Giordano Noyola²
Mtra. Mireya Verónica Rodríguez Córdova²

RESUMEN

Se estudió el efecto del arsénico en el desarrollo postnatal en ratas. De acuerdo con los resultados se observó que el arsénico en concentraciones leves (entre 3-5 ml/kg/día), no tiene un efecto severo en el desarrollo de las ratas. Sin embargo, se observó que esta concentración leve (cuando el arsénico es ingerido a través de la leche materna), es capaz de inducir un aceleramiento ligero respecto a la apertura de oídos y a la apertura de ojos, y también produce una disminución de la actividad locomotora espontánea. Cuando la rata ingería directamente el arsénico (una vez que eran destetadas), los efectos que se observaron fueron que la actividad locomotora espontánea aumentaba, respecto de las controles y la actividad de juego se ve disminuida.

INTRODUCCIÓN

En el continente asiático han ocurrido diversos incidentes de contaminación del agua. La concentración de Arsénico que esta agua contiene es de alrededor de .05 mg/lit cantidad máxima permitida por la Organización Mundial de la Salud (WHO). Las personas que se han visto afectadas al estar en contacto o beber de esta agua, han presentado solamente lesiones dermaticas sin otras manifestaciones, aunque se cree que algunos órganos internos estarán afectados (Gautman y col., 1999). Una investigación que se hizo con personas que habitaban o que trabajaban cerca a bancos de residuos mineros y que tenían acceso al arsénico vía oral (a través del agua), brindaron datos que sugieren que el arsénico pudo ser el causante de abortos espontáneos y nacimientos

prematuros aunque estos datos son difíciles de interpretar ya que estas personas estuvieron también en contacto con otras sustancias químicas (Golub y col. 1998). Estudios en animales han encontrado que el arsénico inorgánico administrado a ratas en gestación, produce toxicidad en el desarrollo de los fetos, patrones de malformaciones, retardo en el crecimiento y muerte, dependiendo de la cantidad y de la vía de administración (Golub y col. 1998).

Cuando el arsénico (Arsenito de Sodio) entra por vía oral primeramente se absorbe, luego se distribuye y finalmente termina siendo excretado. La distribución dependerá de la cantidad de arsénico ingerido y del tipo de arsénico (las sales de arsenito son más solubles en agua, y por lo tanto son más absorbidas que los óxidos). Una vez que ha sido absorbido el arsénico en la vía gástrica, se distribuye hacia el hígado, riñones, pulmones y corazón, piel, cabello, uñas, aunque también se distribuye en menor cantidad hacia el tejido muscular y neural. (Berner y Cooper, 1985). En el tracto gastrointestinal el Arsénico produce ruptura epitelial ya que se producen vesículas en la mucosa, mismas que se rompen y se coagulan. En el riñón el daño se observa en los capilares, en los túbulos y en los glomérulos provocando en ocasiones necrosis. En la piel el arsénico produce manchas e hiperpigmentación, causa vasodilatación y degeneración cutánea y posiblemente cáncer. El daño que se produce a nivel neural ocurre porque desmieliniza algunas vías periféricas eferentes, lo cual produce un entecimiento de reflejos en los tendones profundos que se ubican en las extremidades. El arsénico inorgánico y algunos orgánicos son particularmente tóxicos para el hígado ya que provoca necrosis central, y cirrosis. (Goodman Gilmon, 1988). El arsénico atraviesa la barrera placentaria, y también se excreta por orina, heces, piel, uñas, cabello y leche materna.

¹ Estudiante del 10o. Semestre de Psicología. Centro de Ciencias Sociales y Humanidades. UAA.

² Profesor-investigador del Centro de Neurobiología, Campus UNAM-UAQ, Juriquilla, Qro.

* Este trabajo fue realizado dentro del Programa Verano Regional de la Ciencia.

Existen pocas investigaciones en animales que hayan estudiado los efectos de la intoxicación crónica con arsénico (As) sobre el desarrollo y la conducta. Ya que la exposición al As en poblaciones humanas es cada día más común, es importante que a través del modelo animal se prueben los efectos que produce la intoxicación para así poder predecir los efectos que pudiera tener sobre los humanos. La presente investigación se realizó con la finalidad de determinar alteraciones en parámetros conductuales y del desarrollo de las ratas postnatales cuyas madres se intoxicaron con arsénico (Arsenito de Sodio), por vía oral a través de agua con una concentración de 3-5mg/kr/día.

METODOLOGÍA

ANIMALES

Los sujetos que se utilizaron para esta investigación fueron ratas nulíparas de la variedad Wistar (*Rattus norvegicus*), que se obtuvieron del bioterio del Centro de Neurobiología de la UNAM. Los animales son de un pie de cría originales del proveedor "Harlan Sprague Dawley" (Indianapolis, IN, USA).

Se utilizaron 8 ratas en gestación, las cuales estuvieron separadas en cajas de acrílico transparente (45 x 30 x 20cm), con tapas de rejillas metálicas, con agua y alimento *ad libitum*. Su peso osciló entre los 325-330 gr. La edad de las ratas era de aproximadamente 3 meses. Las ratas se mantuvieron en ciclos invertidos de 12 hrs. de luz/12 hrs. de oscuridad en un cuarto con temperatura controlada manteniendo $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ y entre 40 y 50% de humedad. En el día de nacimiento de las crías se eligieron al azar las ratas controles y las experimentales. El parto se consideró como el día 0 postnatal. El día 0 fue el primer día de tratamiento con arsénico 5mg/kg/día para la rata experimental. A la rata control se le daba agua sin ningún tóxico.

Las 8 ratas se dividieron en tres grupos a saber:

- A) Grupo Control: Tres ratas que no recibieron ningún tóxico y que tuvieron en total 32 crías.
- B) Grupo Arsénico al nacimiento (Asnac): Tres ratas que comenzaron a intoxicar con Arsenito de Sodio en el día 0 postparto, tuvieron en total a 29 crías.
- C) Grupo Arsénico intoxicación en el 15 día de gestación (As/15d/gest.): Dos ratas que se

intoxicaron con Arsenito de Sodio 15 días antes del nacimiento de las crías, las cuales tuvieron en total a 22 crías.

NOTA: Un grupo control y uno Arsénico nacimiento fueron evaluados durante 38 días, y los demás fueron evaluados durante sólo 20 días, esto se debió a que los animales se obtuvieron en diferentes momentos por la carencia en el Bioterio.

TÓXICO

Con base en la cantidad de agua de bebida que ingirieron las hembras preñadas, se dosificó la cantidad de Arsenito de Sodio (SIGMA, lote:106f-0583 p.m.129.9) de manera que la rata consumiera 3-5mg/kg/día de arsénico.

PROCEDIMIENTO

Con la finalidad de hacer comparaciones entre el desarrollo de las crías de la rata control y la experimental, se hizo una batería integrada por diversas pruebas para medir maduración y conducta. La batería de pruebas estuvo configurada de la siguiente manera:

I PRUEBAS DE MADURACIÓN

- 1.1.- Peso de las crías y de las madres.- Se realizó cada tercer día
- 1.2.- Crecimiento del vello corporal.- Se realizó del 5 al 10.
- 1.3.- Apertura de Párpados.- Se realizó del 13 al 19.
- 1.4.- Apertura de Oído externo. Se realizó del 9 al 16.
- 1.5.- Girar o moverse en círculos concéntricos (Pivoting).- Se realizó los días 7, 9 y 11.
- 1.6.- Reincorporación (surface righting reflex).- Se realizó los días 4 y 6.
- 1.7.- Evitación de la caída o del centro de gravedad (negative geotaxis).- Se realizó el día 10.
- 1.8.- Fuerza en las extremidades (Forelimb grip strength).- Se realizó el día 13.
- 1.9.- Actividad locomotora espontánea

1.10.- Coordinación Motora (SmartRod).

1.11.- Caer boca arriba (midair surface righting reflex).-
Se realizó el día 12.

II PRUEBAS CONDUCTUALES

2.1.- Conducta Maternal.

2.2.- Conducta de Juego.

RESULTADOS

Resultados estadísticos NO significativos; en las pruebas de girar sobre su eje (pivoting), crecimiento de vello corporal, fuerza en las extremidades, reincorporarse, caer boca arriba (midair surface right-

ing reflex), evitación a la caída (negative geotaxis), y conducta maternal los resultados no fueron significativos al momento de aplicárseles un tratamiento estadístico.

La prueba de peso mostró una diferencia significativa ($p < .05$), pero al examinar los resultados se observó que éstos se debían a que las camadas de los diferentes grupos poseían cantidades de crías distintos, y fue esta variable la que provocó las diferencias estadísticas. Para futuros experimentos se recomienda que al nacimiento de las crías, se homogenicen las camadas para no tener este problema.

Resultados estadísticos significativos; a continuación aparecen los resultados significativos que arrojó la prueba no paramétrica Chi-Cuadrada de la apertura de oídos y de la apertura de párpados entre el grupo control y el As/15días.

CONTROL vs AS/15DÍAS

Tabla de 2 x 2 que muestra las frecuencias de la apertura de párpados con puntaje de 0 en el día 14 postnatal.

Tabla #1

	Puntaje de 0	Puntaje de 1,2	Chi-square
Sujetos			
CONTROL	16	16	$p = .0001$
As 15 DÍAS	0	22	

Tabla de 2 x 2 que muestra las frecuencias de la apertura de párpados con puntaje de 2 en el día 13 postnatal.

Tabla #2

	Puntaje de 0,1	Puntaje de 2	Chi-square
Sujetos			
CONTROL	23	9	$p = .0064$
As 15 DÍAS	0	22	

Tabla de 2x2 que muestra las frecuencias de la apertura de oídos con puntaje de 2 en el día 12 postnatal.

Tabla #3

	Puntaje de 1	Puntaje de 2	Chi-square
Sujetos			
CONTROL	24	8	$p = .0000$
As 15 DÍAS	0	22	

CONDUCTA DE JUEGO DEL DÍA 32:

Prueba U Mann-Whitney

By variable GRUPO

Tabla #4
ENCIMAMIENTO

Rank Contr.	RanK Exper.	U	p-level
48	18	3.0	0.0284669

Tabla #5
PELEA

Rank Contr.	Rank Exper.	U	p-level
49.5	16.5	1.5	0.0135024

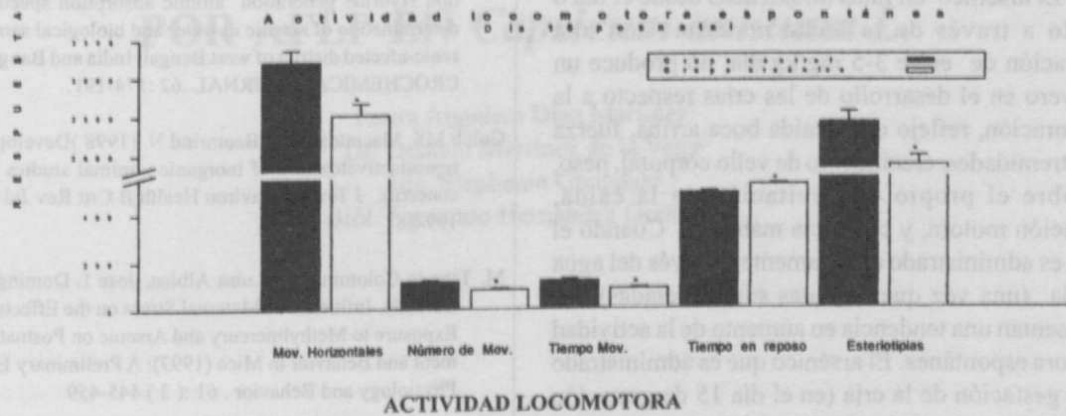


Figura 1. Promedio \pm EMM de la actividad locomotora espontánea registrada durante 10 min., el día 16 postnatal en ratas tratadas con arsénico 37 mg/Lt de agua de bebida. Registrándose la actividad horizontal (cuentas), el número de movimientos (cuentas), tiempo de movimientos (min.), tiempo de reposo (min.) y cuentas estereotipadas. * $p < .05$

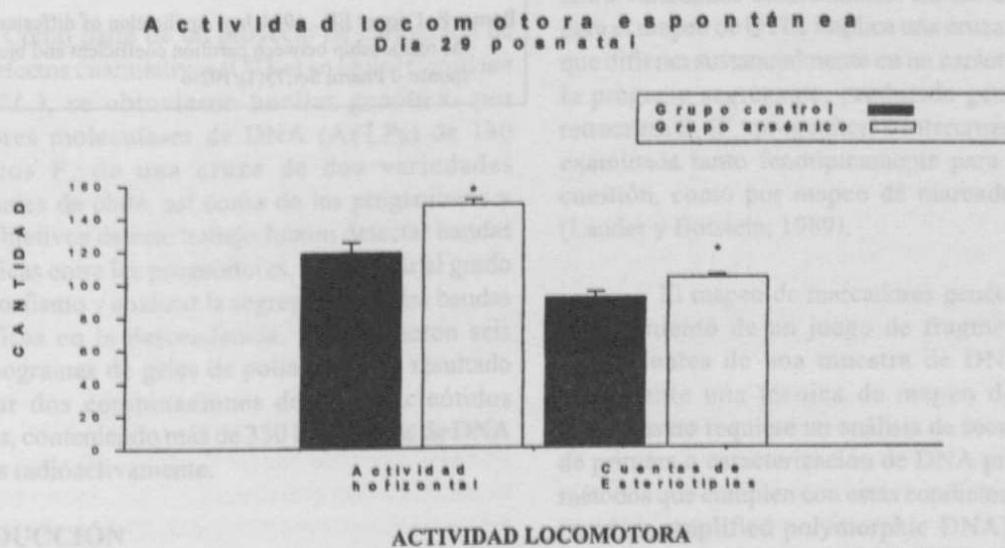


Figura 2. Promedio \pm EMM de la actividad locomotora espontánea registrada durante 10 min. el día 29 postnatal en ratas tratadas con arsénico 37 mg/Lt de agua de bebida. Registrándose la actividad horizontal (cuentas), y las cuentas estereotipadas. * $p < .05$

DISCUSIÓN:

La concentración de entre 3-5mg/kg/día de As que recibieron los sujetos experimentales, no afectó o alteró el desarrollo de las ratas postnatalmente, como se observó en las pruebas de desarrollo; girar sobre su eje, reincorporación, evitación a la caída, aparición de vello corporal, peso, reflejo de reincorporación en la caída, fuerza en las extremidades y en la coordinación motora.

Algunos parámetros del desarrollo postnatal (apertura de oídos y de párpados) el grupo intoxicado

con arsénico desde los 15 días del desarrollo prenatal presenta la apertura de ojos y oídos más temprano que el control. Respecto a los resultados de la conducta de juego los datos indican que el As disminuyó la conducta de juego en las ratas experimentales, esto cuando fueron probados en el día 32 postnatal después de tener 11 días de intoxicación. Los resultados del Digiscan refieren que en el día 16 las ratas experimentales pasan por una fase de hipoactividad. Pero cuando son registradas en el día 29, las ratas invierten los resultados y ahora respecto de las controles presentan una hiperactividad.

CONCLUSIONES :

El arsénico en ratas intoxicadas desde el día 0 postparto a través de la leche materna con una concentración de entre 3-5 mg/kg/día, no produce un daño severo en el desarrollo de las crías respecto a la reincorporación, reflejo de la caída boca arriba, fuerza en las extremidades, crecimiento de vello corporal, peso, girar sobre el propio eje, evitación de la caída, coordinación motora, y conducta maternal. Cuando el arsénico es administrado directamente a través del agua de bebida (una vez que las ratas son destetadas), las ratas presentan una tendencia en aumento de la actividad locomotora espontánea. El arsénico que es administrado desde la gestación de la cría (en el día 15 de gestación de la rata), provoca un aceleramiento respecto a la apertura de párpados y oídos. Las ratas intoxicadas desde el nacimiento, presentan una disminución en la conducta de juego.

BIBLIOGRAFÍA :

- Gautman Samanta, Tarit Roy Chowdhury, y col (1999); "Flow injection Hydride generation atomic absorption spectrometry for determination of arsenic in water and biological samples for arsenic-affected district of west Bengal, India and Bangladesh. *MI-CROCHEMICAL JOURNAL* .62 :174-191.
- Golub MS, Macintosh MS, Baumrind N. (1998) Developmental and reproductivetoxicity of inorganic ; animal studies and human concerns. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev Jul-Sep ; 1(3) : 199-241*
- M. Teresa Colomina, M. Luisa Albina, Jose L Domingo y Jacinto Corbella. Influence of Maternal Stress on the Effects of Prenatal Exposure to Methylmercury and Arsenic on Postnatal Development and Behavior in Mice (1997): A Preliminary Evaluation. *J Physiology and Behavior* . 61 : (3) 445-459
- Joel G. Hardman, Lee E. Limbird : 1996. *THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS*.
- U. S.A. Editorial Mc Graw-Hill, Novena Edición.
- Berner B, Cooper ER. 1984 Jan. Application of diffusion theory to the relationship between partition coefficient and biological response. *J Pharm Sci;73(1):102-6*

Tabla de 2 x 2 que muestra las frecuencias de la apertura de párpados con puntaje de 0 en el día 14 postnatal.

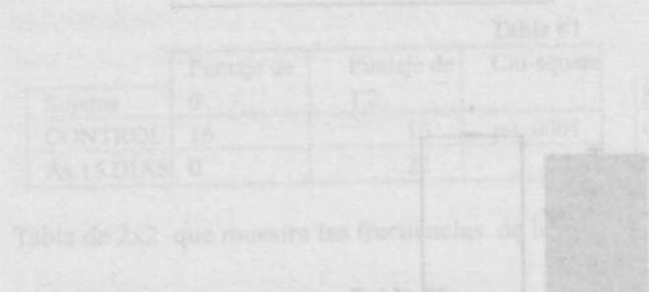


Tabla de 2x2 que muestra las frecuencias de la actividad locomotora espontánea registrada después de 10 min. de la 20 postnatal.

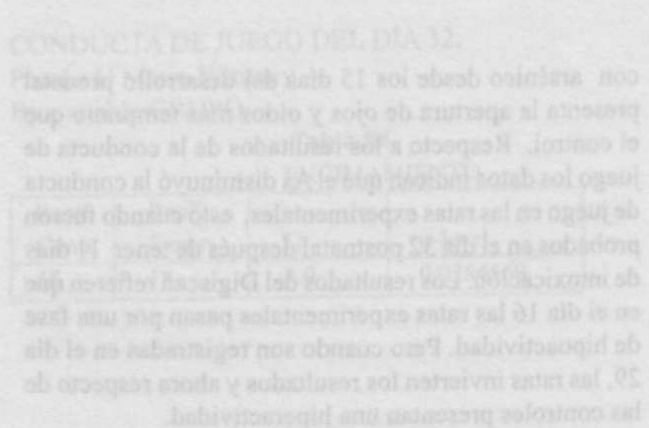


Tabla #3

Grupo	Porcentaje de apertura de párpados	Porcentaje de actividad locomotora
CONTROL	~85%	~45%
As 15 DÍAS	~65%	~65%

CONDUCTA DE JUEGO DEL DÍA 32.

con arsénico desde los 15 días del desarrollo prenatal, presenta la apertura de ojos y oídos más temprano que el control. Respecto a los reflejos de la conducta de juego los datos indican que el grupo intoxicado presentó un juego en las ratas experimentales, esto cuando fueron probados en el día 32 postnatal después de ser 14 días de intoxicación. Los resultados del Digiscan reflejan que en el día 16 las ratas experimentales pesan por una fase de hiposensibilidad. Pero cuando son reprobadas en el día 32, las ratas invierten los resultados y ahora respecto de los controles presentan una hipersensibilidad.

DISCUSIÓN:

La concentración de entre 3-5mg/kg/día de As que recibieron los sujetos experimentales, no afectó el desarrollo de las ratas postnatalmente, como se observó en las pruebas de desarrollo; para saber más de este tipo de pruebas, evitación de la caída, apertura de párpados, reflejo de reincorporación en la caída, fuerza en las extremidades y en la coordinación motora.

Algunos parámetros del desarrollo postnatal (apertura de oídos y de párpados) el grupo intoxicado