

# Universidad de Guadalajara

Facultad de Ciencias Biológicas



Efectos de la Exposición a Colueno en Distintas Etapas de la Gestación en Ratas Sobre el Crecimiento Corporal y Maduración Cerebelar Postnatal de la Progenie

Tesis Profesional

Que para obtener el Título de:

Licenciado en Biología

Presenta:

Delia Román Montes

Guadalajara, Jalisco, 1991.

14396/016495  
B242  
S.I



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
FACULTAD DE CIENCIAS

Sección .....

Expediente .....

Número 0948/90 .....

SRITA. DELIA ROMAN MONTES  
P R E S E N T E . . -

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "EFECTOS DE LA EXPOSICION A TOLUENO EN DISTINTAS ETAPAS DE GESTACION DE RATAS SOBRE EL CRECIMIENTO CORPORAL Y MADURACION CEREBELAR POSTNATAL DE LA PROGENIE" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el M.en C. Joaquín García Estrada.

A T E N T A M E N T E  
"PIENSA Y TRABAJA"  
Guadalajara Jal., 20 de Junio de 1990



FACULTAD DE CIENCIAS

EL DIRECTOR

ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS CARDENAS

EL SECRETARIO

M.V.Z. MIGUEL CARBAJAL SORTA

cglr..

Al contestar este oficio cifrese fecha y número



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
FACULTAD DE MEDICINA

SECCION \_\_\_\_\_  
EXPEDIENTE \_\_\_\_\_  
NUMERO \_\_\_\_\_

C. M en C Carlos Beas Zarate.  
Director de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara.  
P R E S E N T E

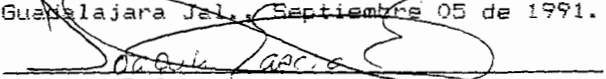
Apreciable Maestro Beas; por este conducto me permito informarle que la P. de Biol. DELIA ROMAN MONTES ha concluido satisfactoriamente el trabajo de investigación: "EFECTOS DE LA EXPOSICION A TOLUENO EN DISTINTAS ETAPAS DE LA GESTACION EN RATAS SOBRE EL CRECIMIENTO CORPORAL Y MADURACION CEREBELAR POSTNATAL DE LA PROGENIE ", bajo mi dirección.

Por lo anterior solicito a Ud. su autorización a fin de programar la presentación de su examen de tesis y profesional.

Sin otro particular aprovecho esta oportunidad para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

"Piensa y trabaja"  
"Año José Guadalupe Zuno Hernández"  
Guadalajara Jal., Septiembre 05 de 1991.

  
M en C Joaquín García Estrada,  
Investigador Titular "C" de la Facultad de Medicina.

c.c.p. Archivo.

## DEDICATORIAS

A MI MADRE:

Con cariño, admiración y respeto a quien tanto debo y cuyo ejemplo seguirá guiando mi camino hasta el final.

A MIS HERMANOS:

Por toda su ayuda, apoyo y confianza porque a pesar de las distancias y las circunstancias somos una verdadera familia.

A JAIME:

Un amor que nació durante esta etapa y que cada día crece más dando vitalidad a mi existencia.

A MIS COMPANEROS:

De la facultad de Ciencias Biológicas con el mejor de mis deseos para que todos logren realizar la principal meta de todo profesionista: su trabajo de Tesis.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Al Dr. PEDRO GARZON DE LA MORA:

Por la oportunidad de trabajo.

Al Dr. JOAQUIN GARCIA ESTRADA:

Por todas sus enseñanzas.

Al MVZ JACINTO BANUELOS PINEDA:

Por su increíble paciencia.

A la M en C ESTHER ALBARRAN RODRIGUEZ:

Por su invaluable ayuda y su amistad.

Al MVZ GERARDO S. ESTRADA M:

Por su apoyo, ayuda y amistad sincera.

Al Dr. JUAN MORA G. y su esposa SUSANA de la UIBO por facilitar el material de trabajo.

A AURORA LUCILA GONZALEZ:

Por toda su ayuda con el equipo de computación.

Al Dr. LEONEL DE CERVANTES por las facilidades prestadas.

A mis amigos y compañeros:

Del laboratorio de Investigación, por su amistad y apoyo.

En particular a las instituciones que hicieron posible mi formación como profesionalista y ser humano.

**MUCHAS GRACIAS**

## AGRADECIMIENTOS

Es imposible expresar todo el agradecimiento que siento hacia todas aquellas personas con las que he convivido a lo largo de esta etapa de mi vida, quienes con su asesoría técnica, orientación académica, y sobre todo con sus palabras de apoyo y amistad desinteresada hicieron más fácil la realización de este trabajo.

Porque durante todo este tiempo aprendí y viví cosas inolvidables e invaluable, como el trabajo en equipo, el saber que aún existen personas que ayudan sin pedir nada a cambio, y lo que es mejor la amistad verdadera y el compañerismo, vivencias que sin lugar a dudas recordare y seguiré en todos los lugares a donde vaya y en todas las actividades de mi vida.

EFFECTOS DE LA EXPOSICION A TOLUENO EN DISTINTAS ETAPAS DE LA  
GESTACION EN RATAS SOBRE EL CRECIMIENTO CORPORAL Y MADURACION  
CEREBELAR POSTNATAL DE LA PROGENIE.

Trabajo que presenta la P. de Biol. DELIA ROMAN MONTES (Código  
82367659) para obtener el grado de Licenciatura en Biología.

DIRECTOR DE TESIS:

M en C Joaquín García Estrada

ASESORES:

MVZ Jacinto Bañuelos Pineda

M en C Esther Albarrán Rodríguez

Guadalajara Jalisco., Noviembre de 1991.

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN LA FACULTAD DE MEDICINA  
VETERINARIA Y ZOOTECNIA Y LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA CON APOYO FINANCIERO DEL DEPARTAMENTO  
DE INVESTIGACION CIENTIFICA Y SUPERACION ACADEMICA CON ACUERDO  
B9/3939/MB01-01/3657.

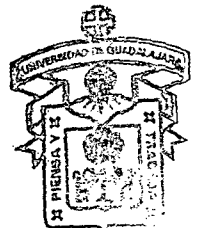


EFFECTOS DE LA EXPOSICION A TOLUENO EN DISTINTAS  
ETAPAS DE LA GESTACION EN RATAS SOBRE EL  
CRECIMIENTO CORPORAL Y MADURACION CEREBELAR  
POSTNATAL DE LA PROGENIE.

# INDICE

Contenido	Página
Resumen .....	3
Introducción .....	4
Planteamiento del problema .....	12
Hipótesis.....	14
Objetivos .....	15
Material y métodos .....	16
Resultados .....	19
Discusión .....	25
Conclusiones .....	29
Bibliografía .....	30

# CUCBA



## BIBLIOTECA CENTRAL

## RESUMEN

Con el objeto de identificar los efectos de la exposición prenatal a tolueno sobre el desarrollo corporal y cerebelar de los productos, 15 ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley divididas en grupos de 5 animales se sometieron a exposición subaguda de vapores de tolueno durante diferentes etapas de la gestación. El primer grupo fue expuesto toda la gestación, el segundo grupo a partir del 8º día y el tercero a partir del 15º día de la gestación. El grupo control no fue expuesto. Al nacimiento y 20 días de edad se registraron los parámetros morfométricos de todos los productos. En ambas edades se perfundieron vía intracardiaca dos crías de cada camada, se obtuvo el encefálo y se registró su peso y dimensiones, al igual que del cerebro y cerebelo por separado. Este último se procesó histológicamente y los cortes teñidos se analizaron al microscopio óptico. Los datos resultantes de los parámetros morfométricos revelaron que el grupo expuesto del día 15-21 presentó mayor peso corporal y tamaño por la formación de edema. A excepción del peso cerebelar, los pesos y dimensiones cerebrales no revelaron una relación directa con el tiempo total de exposición al solvente en ninguna de las edades estudiadas. El estudio histológico reveló mayores alteraciones en el grupo expuesto toda la gestación; pérdida neuronal en corteza cerebelar que fué más evidente al nacimiento que a los 20 días postnatales. Los grupos expuestos a partir del segundo y último tercio de gestación mostraron maduración y orientación anormal de las células de Purkinje respectivamente. El tolueno afectó el cerebelo de la progénie experimental en forma dosis-dependiente. A los 20 días postnatales persistió la reducción numérica neuronal.

## INTRODUCCION

El toluol (Tolueno ó metilbenceno) de fabricación comercial procede de la brea de la hulla, es un líquido incoloro que por su poder disolvente se parece mucho al benzol o benceno. Se utiliza para la obtención de compuestos como el nitrotoluol, cloruro de bencilo, cloruro de benzaldehido, tricloro metilbenzol, ácidos benzoicos etc. (1).

Las principales aplicaciones industriales de éste compuesto son; como solvente de lacas, pinturas y pegamentos, líquido limpiador de máquinas y herramientas, como componente de la gasolina, así como materia prima para la síntesis de una gran variedad de productos químicos y medicamentos; entre éstos el ácido benzoico, sacarina y trinitotolueno (2).

Los vapores de tolueno provocan irritación en las mucosas oral, nasal y ocular. Se ha observado que exposiciones agudas a concentraciones tóxicas provocan mareos, incoordinación motora, taquicardia, cefalea y dermatitis (3-5) la recuperación de los individuos ocurre rápidamente, sin embargo la exposición crónica causa daños irreversibles especialmente en el Sistema Nervioso (SN) (6).

En la industria, numerosos trabajadores están expuestos constantemente a los vapores de tolueno hasta por periodos de 8 horas diarias. Por otra parte, en las 3 últimas décadas se ha popularizado el abuso del tolueno como agente psicotrópico recreativo entre niños y adultos de ambos sexos, quienes lo inhalan directamente puro impregnando un trozo de estopa

absorbente, o por medio de los productos que lo contienen como solvente (3).

De la exposición laboral o voluntaria de abuso resultan diferentes cambios neurológicos; encefalopatía permanente, degeneración cerebelar, hiperquinesia involuntaria, atáxia, dislexia, alteraciones de la audición, ceguera y pérdida de la memoria (3-11).

Al absorberse el tolueno a través de las paredes alveolares se transforma rápidamente, un 75 a 80% se convierte en el hígado en ácido benzoico mediante la enzima dependiente de la citocromo P-450, por oxidación primaria del grupo metil (12), y de esta manera es eliminado por la orina en forma de ácido hipúrico.

Mediante el monitoreo de la concentración ambiental laboral de tolueno se ha determinado que para fines de seguridad la exposición no debe rebasar el límite de 100 ppm. (4), ya que a 200 ppm. resultan efectos tóxicos en ratones expuestos (2).

Se han hecho estudios sobre la embriotoxicidad del tolueno en productos de madres expuestas durante el embarazo, se ha establecido que este compuesto difunde a través de la sangre materna y atraviesa la barrera hematoplacentaria. Una vez en contacto con el feto, se deposita en tejidos lipídicos como el hígado y SN (4).

La incorporación de los metabolitos del tolueno al feto sucede rápidamente por su metabolismo elevado, los solventes en general afectan la membrana celular al separar

el enlace éster de las lipoproteínas, de esto resultan trastornos en la permeabilidad membranal que pueden provocar ingreso indiscriminado de solutos al espacio intracitoplasmático (13).

Como resultado de la exposición prenatal resultan productos de bajo peso corporal, y en casos crónicos se producen malformaciones secundarias en cara y miembros, así como defectos en Sistema nervioso central (SNC) como el cierre incompleto del tubo neural.

También se tienen reportes de anoxia y asfixia neonatal, y los productos de madres expuestas crónicamente son de bajo peso corporal y manifiestan disfunción del SNC y anormalidades conductuales (4,13-15).

En ratas expuestas a la inhalación de solventes orgánicos durante los primeros 30 días de vida postnatal se produjo incoordinación locomotora, dificultad para el nado y deficiente desarrollo físico (16). Después de una exposición aguda en ratas se afecta la concentración cerebral de catecolaminas (17). Del mismo modo, en experimentos con ratas sometidas a la inhalación de solventes orgánicos, se ha reportado; daño al sistema vestibulo-oculo-motor, ataxia e incoordinación motora (18-20).

La fisiopatología de intoxicación por tolueno aún se desconoce, sin embargo, se proponen diferentes mecanismos entre los que se encuentran la interrupción del metabolismo energético por acción del solvente, lo cual provoca cambios severos bioquímicos y neuronales y disrupción de la función

membranal por partición inespecifica de la bicapa lipidica, al unirse el tolueno a varias enzimas integrales y afectar la composición lipidica de la membrana (21).

Por otra parte en bacterias expuestas a tolueno se produjo inhibición en la síntesis de ADN (4)

Se dispone de bastante información acerca de los daños que ocasiona el tolueno en Sistema nerviosos periférico (SNP), sin embargo los reportes sobre daños en SNC son escasos (18-19), en la mayoría corresponden a casos clínicos aislados y a estudios psicométricos que reflejan trastornos intelectuales (19-20).

El Sistema nervioso es especialmente vulnerable debido a su alta necesidad de abasto sanguíneo y glucosa (7), se ha observado que el cerebelo es particularmente sensible a los daños provocados por solventes.

En general el cerebelo representa un buen modelo para realizar estudios de desarrollo del SNC por el tipo de maduración prenatal y postnatal tardía que presenta respecto al cerebro, por su citoarquitectura estratificada y por ser un órgano fácil de manipular tanto "in vivo" como "in vitro".

Con éste se han realizado estudios experimentales utilizando sustancias tóxicas como el ácido Kainico, etanol, eter, cloroformo etc. (22-25).

El cerebelo es muy sensible al alcohol y a los efectos resultantes por una circulación sanguínea deficiente (26), las lesiones unilaterales en este órgano tienen efectos homolaterales, es decir los síntomas se manifiestan en el mismo

lado.

Por otra parte, se ha demostrado un grado diferente de susceptibilidad en las distintas regiones del cerebelo igual que una diferente capacidad de reparación. Las lesiones de la corteza cerebelosa pueden atenuarse con el tiempo y reducirse la severidad de los síntomas, sin embargo los daños a núcleos cerebelares profundos o al pedúnculo cerebelar son permanentes.

El cerebelo está presente en todos los vertebrados, participa en la coordinación de los movimientos musculares. En los mamíferos se localiza en la fosa posterior del cráneo, la parte superior corresponde al tentorium, caudalmente rebasa el agujero magno y llega hasta la parte superior del conducto vertebral, interponiéndose entre el bulbo y el arco posterior del Atlas (26,27).

Está constituido por 5 diferentes tipos de neuronas: células de Purkinje, granulosas, estrelladas, en forma de canasta y de Golgi (22).

Cronológicamente el desarrollo del cerebelo es más retardado que el del cerebro, en ratas empieza a formarse a partir del día 13 de vida embrionaria (13E) y completa su madurez alrededor del día 30 de postnatal (30P) (23), se origina a partir del plegamiento que se forma en la parte dorsal del metencéfalo.

Las células de Purkinje reciben todos los impulsos aferentes y son el origen de la información del sistema cortical eferente. Existen aproximadamente unos 30 millones de



células de Purkinje en el cerebelo adulto (27), estas por sus funciones constituyen la principal estirpe celular de la corteza cerebelar, empiezan a formarse a partir del día 15E, y migran hacia el lugar definitivo por el día 16E y completan su desarrollo en el día 17P (22).

Las células granulosas se forman el día 17E y finalizan su maduración el día 30P. Las células de Golgi, las estrelladas y las de forma de canasta se desarrollan a partir del día 19E (22,23).

Esta maduración tardía hace al cerebelo más vulnerable a la exposición perinatal de diversos agentes nocivos (13).

Estudios experimentales en cerebelo de ratas expuestas a vapores de etanol durante el período anterior al destete mostraron reducción en el número de células de Purkinje y granulares (24).

En experimentos de cultivos de tejido expuestos a ácido Kainico se produjo destrucción en las células de Purkinje. Además la exposición prolongada disminuyó la población de células granulares (25).

Se tienen bastantes datos del desarrollo cerebelar en numerosas especies animales, particularmente en lo referente a su maduración postnatal, tanto en cultivo como en preparaciones histológicas (22-26,28).

Las lesiones del cerebelo o de sus fibras aferentes o eferentes producen numerosos síntomas característicos que se reflejan en la actividad motora como; hipotonia, astenia, asinergia, dismetria, temblores y ataxia (25).

El mecanismo de rehabilitación no se ha entendido claramente, puede estar relacionado con las múltiples entradas en la corteza cerebelosa que son similares en todo el órgano, por lo que la desaparición de algunas vías se compensa por otras que se encuentran en cantidad suficiente para conservar la actividad (26). No obstante, el SNC de animales adultos en general tiene una baja capacidad de reparación (7).

En casos clínicos donde se ha producido una grave degeneración cerebelar por el abuso voluntario crónico a solventes, o en trabajadores, en quienes se ha detectado una alta incidencia de daños en las funciones del sistema vestibular-oculomotor, estas lesiones se asocian con trastornos en el cerebelo. Entre los principales están; Ataxia, incoordinación motora, dificultad al hablar, temblor y asinergia (7).

Otros experimentos han revelado que el cerebelo en etapas tempranas de su desarrollo es más sensible que el cerebelo maduro a estímulos nocivos como hipoxia, esto se debe a que el centro principal de la respiración presente en el cerebelo, tiene una composición neuronal diferente en cerebelo de jóvenes y adultos (28), lo que podría explicar la mortalidad neonatal.

Por otra parte, la exposición a etanol en ratas mostró daño cerebelar dos veces mayor que en el cerebro, esto confirma la mayor vulnerabilidad del cerebelo en desarrollo, en comparación con el cerebro inmaduro.

El objetivo principal del presente trabajo fue,

describir los trastornos en el desarrollo perinatal del cerebelo como consecuencia de la exposición prenatal a los vapores de tolueno a partir de diferentes etapas de la gestación, con el propósito de identificar la severidad de las lesiones al nacimiento, y la evolución del daño después de los primeros 20 días postnatales.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

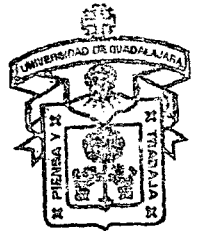
Los solventes orgánicos tienen un amplio uso en numerosas industrias, sin embargo no existen regulaciones laborales para evitar que los trabajadores sean expuestos a los vapores tóxicos que desprenden los solventes, esto conlleva el riesgo de que se produzcan daños orgánicos permanentes. Por otra parte, el abuso del tolueno por intoxicación voluntaria se ha popularizado durante los últimos 30 años, lo cual aumenta considerablemente el problema.

En mujeres embarazadas los solventes son altamente teratogénicos debido a que atraviesan la barrera hematoplacentaria y se depositan principalmente en hígado, SNC y riñones fetales, lo que trae como consecuencia alteraciones en el metabolismo, que se manifiestan como disminución en el desarrollo corporal e intelectual, y que puede llegar hasta la muerte fetal.

El cerebelo, como parte integrante del SNC es especialmente sensible a un gran número de agentes químicos y físicos, sin embargo se sabe poco del efecto de solventes como el tolueno sobre el desarrollo fetal de este órgano, aún más, se desconoce si existe una etapa del desarrollo fetal más susceptible a este solvente. Por lo que el presente estudio tiene la intención de definir la etapa fetal de mayor vulnerabilidad y la posible rehabilitación que sucede en la vida postnatal, de esta forma se contribuirá a aumentar el conocimiento disponible sobre este problema creciente de salud

pública.

**CUCBA**



**BIBLIOTECA CENTRAL**

# CUCBA



## HIPOTESIS

## BIBLIOTECA CENTRAL

La exposición de madres gestantes a los vapores de tolueno afecta con distinta severidad el desarrollo y la maduración del cerebelo de la progenie dependiendo del estadio del desarrollo prenatal al inicio de la exposición.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar las alteraciones del crecimiento intrauterino y del desarrollo postnatal del cerebelo en productos de ratas expuestas a la inhalación de tolueno en distintas etapas de la gestación.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Realizar un estudio histológico descriptivo de la corteza del vermis cerebelar de crías control y experimentales al nacimiento y a los 20 días postnatales.
- 2) Analizar el desarrollo somatométrico y encefálico de productos control y experimentales al nacimiento y a los 20 días postnatales.

## MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron veinte ratas albinas hembras, de la cepa Sprague-Dawley (250 gr de peso) del segundo parto, alojadas en jaulas individuales, sujetas a ciclos de luz-oscuridad de 12x12 horas y alimentadas con dieta para roedores y agua "ad-libitum" durante el estudio. Luego de detectar la etapa estral de los animales por medio de citología exfoliativa vaginal se dejó un macho por cada 3 hembras durante una noche, después del apareamiento se determinó la gestación por la presencia de espermatozoides en el exudado vaginal y con lo cual se estableció el primer día de gestación. Con las hembras preñadas se formaron 4 grupos de 5 ratas cada uno, el grupo control se dejó intacto sin exposición ni manipulación. El resto de los grupos fueron expuestos a los vapores de tolueno en una cámara de cristal rectangular con una capacidad de 37 lt y un sistema regulable de aereación. Para realizar las exposiciones la cámara se saturó durante 30 min con vapores del solvente para lo cual se introdujo un recipiente conteniendo 300 ml de éste. Las exposiciones se realizaron dos veces al día por 10 min después de un intervalo de 8 horas. Los grupos experimentales se distribuyeron de la siguiente forma:

**PRIMER GRUPO.** Se expuso durante toda la gestación (día 1 al 21).

**SEGUNDO GRUPO.** Solamente se expuso durante los dos



últimos tercios de la gestación (a partir del día 8 gestacional).

TERCER GRUPO. La exposición fue solo durante el último tercio de la gestación (a partir del día 15).

Después del parto, en forma aleatoria se ajustaron las camadas a 8 crías, éstas se pesaron individualmente y se tomaron medidas de la longitud craneocaudal y perímetro encefálico de toda la progénie al nacimiento y a los 20 días postnatales.

#### PERFUSION Y DISECCION.

Al nacimiento y a los 20 días de edad se sacrificaron al azar dos crías de cada una de las ratas control y experimentales, se anestesiaron con cloroformo en una cámara de cristal y se perfundieron por vía intracardiaca con una solución lavadora de Ringer-Krebs con procaina (1g/lt) y heparina 1,000 U.I./lt a 37°C, pH de 7.3, 0.1 M y 283 mosm/lt a una presión hidrostática de 130 centímetros cúbicos de agua durante 4 min, seguida de una solución fijadora de glutaraldehido al 1% amortiguado en fosfatos al 0.1 M, pH 7.3 y 583 mosm/l por 8 min.

Inmediatamente después de la perfusión se practicó craneotomía para extraer los encefálos y registrar los parámetros encefálicos; peso, longitud, anchura y espesor del cerebro, así como peso y anchura del cerebelo mediante el uso de una balanza analítica electrónica "Bosch" y un vernier. Inmediatamente después de esto se separaron el cerebro y cerebelo, los cuales se postfijaron por inmersión durante 12

horas en la misma solución fijadora a temperatura ambiente, para luego lavarse abundantemente y conservarse en una solución de fosfatos y almacenar en refrigeración durante un tiempo no mayor a 24 h.

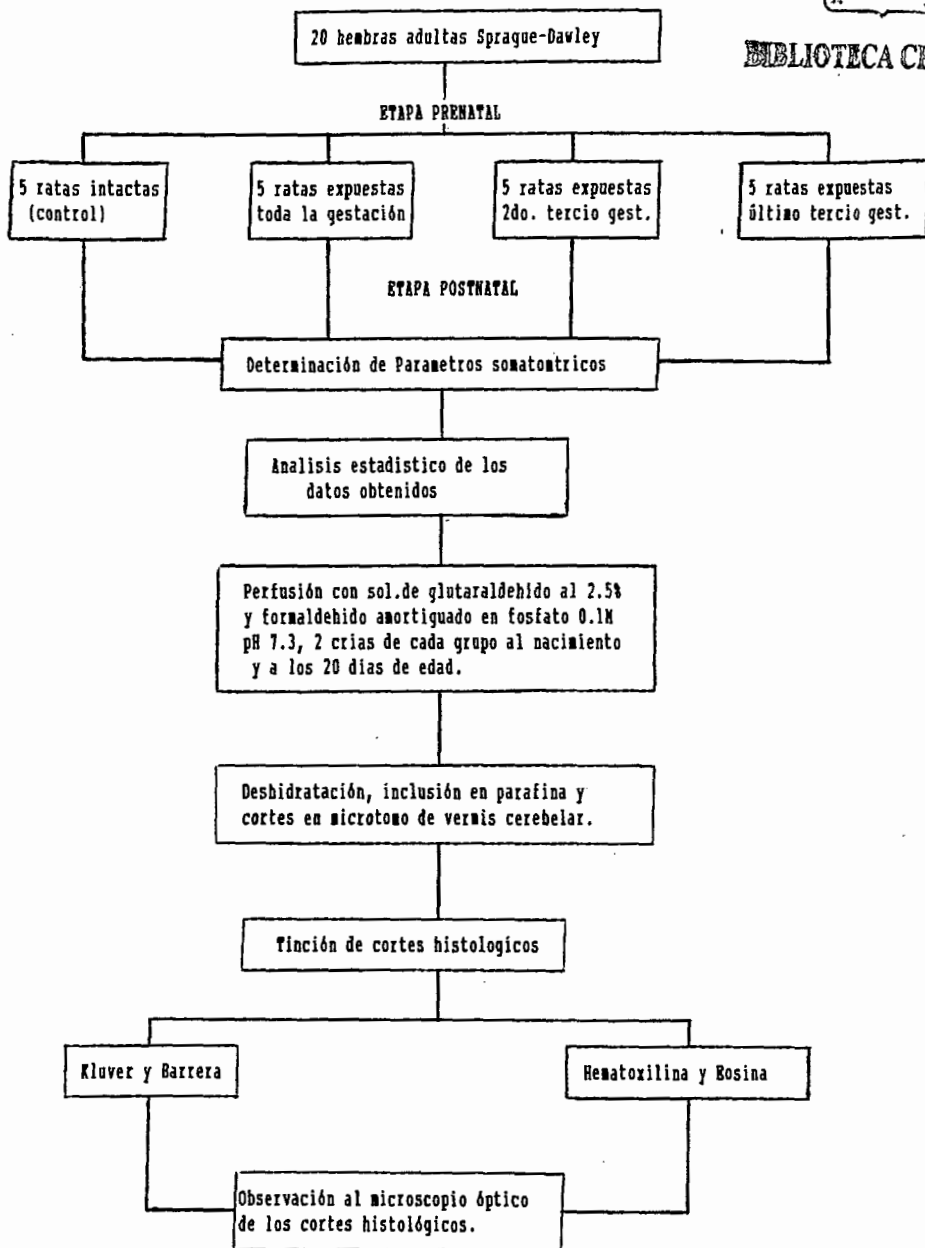
Los cerebelos fueron cortados en dirección medio/sagital a nivel vermis, los dos hemisferios resultantes se deshidrataron en series crecientes de alcohol 70 al 100%, mezclas de alcohol-xilol y xilol. Se incluyeron en parafina líquida a 60 °C en una estufa de incubación y se realizaron cortes de 3 a 5  $\mu$ m de espesor, en un microtomo de rotación. Los cortes se tiñeron con la técnica de hematoxilina-eosina y/o Kluver-Barrera. Se realizó la descripción al microscopio óptico de la capa germinal externa, capa molecular, células de Purkinje y de la capa granular interna.

Los resultados obtenidos de los distintos parámetros somatométricos en los productos control y experimentales se analizaron por el método de variancia aleatoria y la prueba de Duncan a una  $P < 0.01$  (29).

DIAGRAMA DE FLUJO



BIBLIOTECA CENTRAL



## RESULTADOS

El manejo experimental no provocó estrés en las ratas expuestas, ya que solo manifestaron signos de inquietud los tres primeros días de exposición, posteriormente se mostraron dóciles a la manipulación.

Por efecto de la exposición aumentó la actividad locomotora de las ratas, las cuales realizaban movimientos deambulatorios alrededor de la cámara tratando de alcanzar los respiraderos de la misma y de acicalamiento frotándose el pelo, nariz y ojos con las extremidades anteriores.

La actividad locomotora disminuyó al final de la exposición y los animales mostraron un estado de lascitud. Durante los primeros 5 min de exposición los animales orinaban y defecaban con frecuencia, periodo durante el cual las ratas se encontraban más inquietas. La recuperación de los animales ocurrió luego de 30 min post-exposición.

Durante el estudio no se alteró el apetito por causa de la exposición en ninguno de los grupos experimentales, tampoco se redujo el número de crías por parto, ya que el promedio de nacimientos fue similar en las hembras expuestas y las control (Cuadro 1), sin embargo se produjo muerte neonatal en las crías expuestas durante el último tercio de la gestación, cuyo promedio difirió significativamente con el grupo expuesto durante toda la gestación. Los productos muertos nacieron con menor talla y peso que el resto de las crías experimentales y control, además se observó deformidad en la columna vertebral,

sin que pudiera determinarse si se produjeron otras alteraciones anatómicas.

#### PARAMETROS CORPORALES

##### Peso corporal

Al nacimiento las crías de los grupos expuestos obtuvieron el promedio más alto, aunque sólo el grupo 15-21 difirió con el grupo control que presentó el menor promedio ( $P < 0.01$ ), (Cuadro 2). A los veinte días de edad los grupos expuestos también tuvieron mayor peso corporal que el control, sin embargo no se encontraron diferencias significativas.

##### Longitud craneocaudal

Al nacimiento, las crías expuestas del día 15 al 21 y control obtuvieron la mayor longitud craneocaudal, estos valores difirieron estadísticamente con el grupo 8-21, cuyo promedio fue menor. En la segunda edad estudiada el grupo 15-21 alcanzó el promedio más alto y sólo difirió del grupo control ( $P < 0.01$ ) (Cuadro 2).

##### Diámetro cefálico

Al nacimiento todas las crías experimentales revelaron promedios menores a las controles, sin embargo sólo hubo significancia estadística con el grupo 1-21, que presentó el menor promedio. A los veinte días de edad no se encontraron diferencias significativas para este parámetro, el grupo 15-21 registró el mayor promedio, (Cuadro 2).

#### DIMENSIONES ENCEFALICAS

##### Longitud encefálica

En ninguna de las dos edades analizadas se encontraron

efectos por la inhalación del tolueno para este parámetro, al nacimiento los grupos experimentales mostraron promedios menores al control, sin embargo a los veinte días de edad se observó que el promedio del grupo 15-21 fue más alto, (Cuadro 3).

#### Anchura cerebral

Al nacimiento los grupos experimentales revelaron promedios menores que el control sin que fueran significativos, sin embargo a los veinte días de edad el grupo 15-21 alcanzó el promedio más alto estadísticamente significativo ( $P < 0.01$ ) respecto a todos los demás grupos (Cuadro 3).

#### Espesor cerebral

El promedio obtenido en los grupos experimentales fue menor al del grupo control, aunque solo difirió estadísticamente ( $P < 0.01$ ) con el grupo 15-21. De manera contraria, a los 20 días de edad el promedio más alto correspondió al grupo 15-21, aunque no significativo al compararse con el resto de los grupos, (Cuadro 3).

#### Anchura cerebelar

Este parámetro no presentó diferencias significativas entre las crías de ratas expuestas al solvente y las crías de las ratas control a través del estudio (Cuadro 3).

#### PESOS ENCEFALICOS

##### Peso de encefálo completo

Las crías expuestas mostraron menor peso del encefálo completo, no significativo con el peso de las crías control. A

los veinte días post-natales el grupo experimental 8-21 obtuvo un promedio ligeramente mayor que los demás grupos, diferencia que fue estadísticamente significativa ( $P < 0.01$ ).

#### Peso de cerebro separado

Al nacimiento no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos control y experimentales. A los 20 días de edad el grupo 8-21 tuvo el mayor promedio, estadísticamente diferente con los promedios de los grupos control y 15-21 ( $P < 0.01$ ).

#### Peso cerebelar

Al nacimiento el grupo expuesto durante toda la gestación resultó más afectado por el solvente, su promedio fue menor al resto de los promedios experimentales y control y significativamente diferente con este último y el grupo 8-21 ( $P < 0.01$ ). A los 20 días de edad los grupos experimentales obtuvieron promedios menores al grupo control, aunque sólo difirieron significativamente con los grupos 1-21 y 15-21. Asimismo, el grupo 8-21 difirió estadísticamente de estos grupos ( $P < 0.01$ ).

# CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

## ANALISIS HISTOLOGICO

Invariablemente el análisis histológico del cerebelo se realizó sobre la corteza del vermis cerebelar. Al nacimiento y 20 días de edad el grupo expuesto la gestación completa mostró la corteza cerebelosa con menor celularidad que el resto de los grupos experimentales y control (Figs. 1 y 2). El grupo expuesto a partir del segundo tercio de gestación presentó una capa germinal externa con desarreglo de la alineación de células, sin embargo no se afectó la celularidad, pues se observó semejante al control. El grupo expuesto a partir del último tercio de la gestación mostró celularidad ligeramente menor que el grupo control, sin embargo la reducción no fue tan severa como el grupo expuesto toda la gestación (Cuadros 5 y 6).

## Capa germinal externa

El mayor espacio intercelular se observó en los tejidos de ratas expuestas toda la gestación, lo que indica una menor celularidad en las crías recién nacidas, lesión que fue menos evidente a la edad de 20 días en este mismo grupo. Por otra parte, el grupo control mostró una capa persistente de células germinales de una sola célula de espesor (Fig 7), sin embargo el grupo 8-21 manifestó una capa persistente de 2 células y en algunas regiones de la folia cerebelosa hasta de 3 células de espesor (Fig 9) a diferencia del grupo 15-21 en el que prácticamente se observó ausencia de la capa (Fig. 10).

## Capa molecular

En cerebelos de crías recién nacidas no fue posible



distinguir diferencias entre los grupos experimentales y control debido a que aún no se han diferenciado las estirpes de esta capa en la corteza cerebelar de ratas (Figs. 1 y 2). A los veinte días de edad se observó menor celularidad en el grupo expuesto a partir del último tercio de gestación (Cuadros 5 y 6).

#### Células de Purkinje

Al nacimiento los grupos expuestos evidenciaron células de Purkinje de forma redondeada (inmaduras) a diferencia de las células de Purkinje del grupo control, en el cual éstas presentaron forma poliédrica típica y orientación incipiente hacia la capa molecular. La mayor indiferenciación se observó en el grupo 8-21 y fue menos manifiesta en el grupo 15-21, (Figs. 3-6).

A los 20 días de edad la corteza cerebelosa de los grupos experimentales 8-21 y 15-21 mostraron zonas extensas donde las células de Purkinje se encontraban desalineadas y no formando una monocapa. El grupo expuesto toda la gestación reveló una menor celularidad (Figs. 11 y 12).

#### Capa germinal interna

Al nacimiento el grupo 1-21 presentó la menor densidad celular en la capa germinal interna de los grupos expuestos, los cuales tuvieron aspecto semejante al control (Figs. 1 y 2). Por el contrario, a los 20 días de edad el grupo expuesto el último tercio gestacional mostró el mayor espacio intercelular en esta capa.

INDICE DE MORTALIDAD  
(Ratas Sprague-dawley)

GRUPOS	No. de madres	No. de productos	Promedio de crías	No. de muertes	Tasa de mortalidad (%)
Control	5	49	9.8	2	4.08
1-21	5	54	10.8	0	0
8-21	5	55	11.0	1	1.8
15-21	5	46	9.2	8	16.32

Cuadro 1. No se identificaron diferencias significativas entre los grupos control y experimentales para ninguno de los parámetros indicados ( $P < 0.01$ ).

- 1-21= Expuestos toda la gestación.
- 8-21= Expuestos a partir del segundo tercio gestacional.
- 15-21= Expuestos el último tercio.

PARAMETROS MORFOMETRICOS

	Gpo	n	Nacimiento			20 Días			
			X	DE ±	CV (%)	n	X	DE ±	CV (%)
LONGITUD									
CRANEO-	Control	10	6.63 ab	0.45	6.78	10	115.32 a	1.50	9.79
CAUDAL	1-21	10	6.53 ab	0.27	4.13	10	116.31 ab	0.84	5.15
(cm)	8-21	10	6.48 b	0.39	6.01	10	116.44 ab	1.20	7.29
	15-21	10	6.81 a	0.38	5.58	8	117.09 b	1.45	8.48
PESO	Control	10	6.19 a	0.90	14.53	10	132.64 a	7.14	21.87
CORPORAL	1-21	10	6.27 ab	0.71	11.32	10	137.64 a	3.49	9.27
(grs)	8-21	10	6.41 ab	0.71	11.07	10	137.59 a	7.37	19.60
	15-21	10	6.80 b	1.02	15.00	8	138.66 a	8.38	21.66
DIAMETRO	Control	10	9.38 a	0.62	6.60	10	115.66 a	0.63	4.02
CEFALICO	1-21	10	8.97 b	0.61	6.80	10	115.54 a	0.60	3.86
(mm)	8-21	10	9.19 ab	0.59	6.42	10	115.46 a	0.83	5.36
	15-21	10	9.33 a	0.60	6.43	8	116.00 a	1.28	8.00

Cuadro 2. Muestra los parámetros corporales registrados al nacimiento.  
 Literal diferente indica significancia estadíst ( $P < 0.01$ )

- 1-21= Expuesto durante toda la gestación.
- 8-21= Expuesto a partir del segundo tercio de gestación.
- 15-21= Expuesto a partir del último tercio.
- X= Media aritmética.
- DE= Desviación estandar.
- CV= Coeficiente de variación.

PARAMETROS ENCEFALICOS (mm)

Encefálo completo	Gpo	n	Nacimiento			20 Días			
			X	DE ±	CV (%)	n	X	DE ±	CV (%)
LONGITUD	Control	10	11.68 a	0.65	7.79	10	120.76 a	0.52	2.50
	1-21	10	10.92 a	1.44	13.18	10	120.42 a	1.62	7.80
	8-21	10	11.27 a	0.24	2.12	10	120.85 a	0.64	3.06
	15-21	10	11.20 a	0.63	6.50	8	120.99 a	0.77	3.66
ANCHURA CEREBRAL	Control	10	8.34 a	0.58	5.90	10	10.70 a	0.45	4.20
	1-21	10	8.20 a	0.50	6.00	10	10.56 a	0.62	5.90
	8-21	10	8.32 a	0.30	3.60	10	10.76 a	1.53	14.21
	15-21	10	8.07 a	0.50	6.19	8	10.75 b	2.71	4.18
ESPESOR CEREBRAL	Control	10	5.70 a	0.33	5.78	10	14.06 a	0.33	2.34
	1-21	10	5.30 ab	0.34	6.41	10	13.86 a	0.58	4.18
	8-21	10	5.36 ab	0.47	8.76	10	14.54 a	0.28	1.92
	15-21	10	5.00 b	0.44	8.80	8	16.48 a	0.26	1.57
ANCHURA CEREBELAR	Control	10	5.41 a	0.37	6.83	10	9.26 a	0.44	4.75
	1-21	10	5.47 a	0.36	6.58	10	8.80 a	0.75	8.52
	8-21	10	5.27 a	0.26	4.93	10	9.12 a	0.45	4.93
	15-21	10	5.24 a	0.54	10.30	8	9.08 a	0.51	5.63

Cuadro 3. Muestra los resultados de las dimensiones encefálicas registradas en las dos edades de este estudio. Literales diferentes indican significancia estadística ( $P < 0.01$ ).

1-21= Expuesto toda la gestación.

8-21= Expuesto a partir del segundo tercio gestacional.

15-21= Expuesto a partir del último tercio.

X= Media aritmética.

DE= Desviación estandar.

CV= Coeficiente de variación.

PESOS ENCEFALICOS  
(Ratas Sprague-Dawley)  
(grs)

	Gpo	n	Nacimiento			20 Días			
			X	DE ±	CV (%)	n	X	DE ±	CV (%)
PESO	Control	10	0.23 a	0.05	21.74	10	1.10 a	0.80	7.27
ENCEFALO	1-21	10	0.22 a	0.03	13.63	10	1.17 ab	0.10	8.55
COMPLETO	8-21	10	0.22 a	0.02	9.09	10	1.23 b	0.09	7.32
	15-21	10	0.20 a	0.06	30.00	8	1.07 a	0.11	10.28
PESO	Control	10	0.15 a	0.03	20.00	10	0.80 a	0.06	7.5
CEREBRO	1-21	10	0.14 a	0.02	14.29	10	0.90 b	0.06	6.67
SEPARADO	8-21	10	0.15 a	0.01	6.67	10	0.92 cb	0.07	7.61
	15-21	10	0.13 a	0.04	30.77	8	0.82 ab	0.09	10.98
PESO	Control	10	0.06 a	0.014	23.00	10	0.24 a	0.03	14.16
CEREBELO	1-21	10	0.04 b	0.011	27.5	10	0.21 b	0.04	19.04
	8-21	10	0.06 a	0.010	16.66	10	0.22 ab	0.05	22.72
	15-21	10	0.05 ab	0.017	34.00	8	0.18 c	0.02	11.11

Cuadro 4. Presenta los resultados del análisis morfométrico encefálico realizado en las crías experimentales. La significancia estadística está representada por literales diferentes ( $P < 0.01$ )

1-21= Grupo expuesto durante toda la gestación

8-21= Grupo expuesto a partir del segundo tercio gestacional

15-21= Grupo expuesto a partir del último tercio de gestación

X= Media aritmética.

DE= Desviación estandar.

CV= Coeficiente de variación.

CORTEZA CEREBELAR AL NACIMIENTO

GERMINAL EXTERNA			CELULAS DE PURKINJE		
Gpo	Espesor (muestras)	Arreglo (muestras)	Espacio intercel. (No. de muestras)	Presencia (muestras)	Forma (muestras)
Control	4 células 9 de 10	Filas 10 de 10	Escaso 10 de 10	10 de 10	Poliédrica 10 de 10
1-21	3 células 10 de 10	Irregular 10 de 10	Escaso 1 de 10	9 de 10	Poliédrica 7 de 10
8-21	4 células 6 de 10	Filas 5 de 10	Escaso 9 de 10	9 de 10	Poliédrica 6 de 10
15-21	3 células 9 de 10	Irregular 9 de 10	Escaso 3 de 10	10 de 10	Poliédrica 9 de 10

Cuadro 5. Se muestra el análisis del arreglo celular en las zonas definidas desde el nacimiento en la corteza cerebelosa.

1-21= Expuesto durante toda la gestación.

8-21= Exposición a partir del segundo tercio de gestación.

15-21= Exposición a partir del último tercio.

CORTEZA CEREBELAR A LOS 20 DIAS DE EDAD

Gpo	GERMINAL EXTERNA	CELULAS DE PURKINJE		CAPA MOLECULAR	CAPA GERMINAL INT.
	Persistencia No. de muestras	Arreglo Monocapa (Muestras)	Espaciamiento inter: celular. (No. de muestras)	Celularidad (No. de muestras)	Densidad numérica celular. (No. de muestras)
Control	7 de 10	10 de 10	Regular 9 de 10	Abundante 9 de 10	Muy abundante 9 de 10
1-21	2 de 10	10 de 10	Irregular 10 de 10	Abundante 9 de 10	Muy abundante 9 de 10
8-21	9 de 10	8 de 10	Irregular 1 de 10	Abundante 9 de 10	Muy abundante 9 de 10
15-21	1 de 10	6 de 10	Irregular 6 de 10	Abundante 4 de 10	Muy abundante 4 de 10

Cuadro 6. Se muestra la distribución celular en la corteza cerebelosa.

1-21= Exposición toda la gestación.

8-21= Exposición a partir del segundo tercio gestacional.

15-21= Exposición el último tercio.

## FOTOGRAFIAS

Figura 1. Panorámica de la corteza cerebelar al nacimiento de los tejidos de una cría control, mostrando las principales estirpes celulares;

cg= capa granular externa, cm= capa molecular, cp= células de Purkinje gi= germinal interna.

Figura 2. Fotomicrografía de corteza cerebelosa al nacimiento de una cría expuesta durante toda la gestación, puede observarse la escasa celularidad en toda la corteza, especialmente en la capa granular externa (flecha), en comparación con la corteza de la cría control.



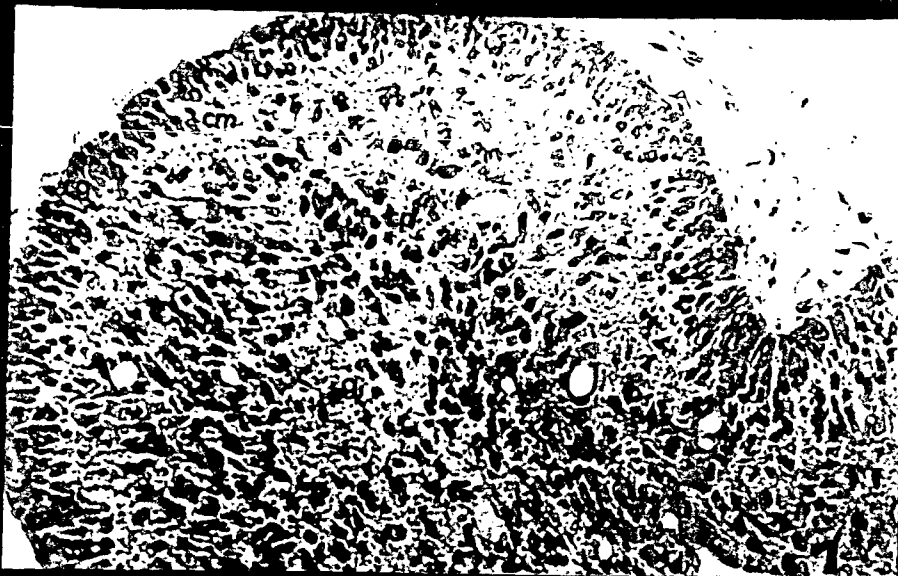


Figura 3. Se muestra a mayor amplificación una zona de la corteza cerebelosa de una cría control al nacimiento, pueden distinguirse las células de Purkinje con una alineación incipiente y de morfología indiferenciada (cp).

Figura 4. Células de Purkinje (cp) al nacimiento del grupo de animales expuestos toda la gestación. Es evidente la escasa densidad numérica celular en la capa molecular y la línea subyacente de células de Purkinje.

Figura 5. Corteza cerebelar de una cría expuesta a partir del segundo tercio de gestación (8-21), también se observan las células de Purkinje (cp) bastante inmaduras.

Figura 6. Corteza cerebelosa que muestra células de Purkinje al nacimiento de aspecto normal.

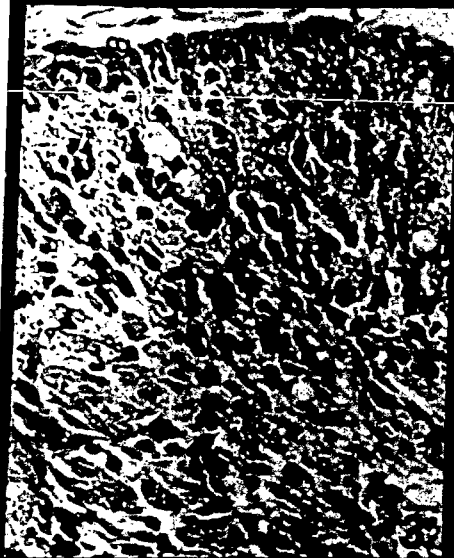


Figura 7. Se observa persistencia de células granulares (flecha) en la capa germinal externa en un corte obtenido de animales control de 20 días de edad.

Figura 8. Se muestra persistencia de células granulares (flecha) en la zona más superficial de la corteza cerebelosa en tejidos de un animal expuesto toda la gestación.

Figura 9. Es más evidente el retardo en la migración de la capa germinal externa (flecha) en un corte de una cría expuesta del día 8 al 21 de la gestación.

Figura 10. Desaparición completa de la capa germinal externa en tejidos de una cría expuesta del día 15 a 21 de la gestación.

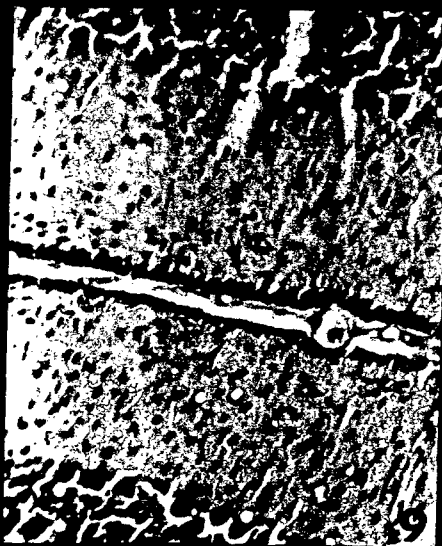
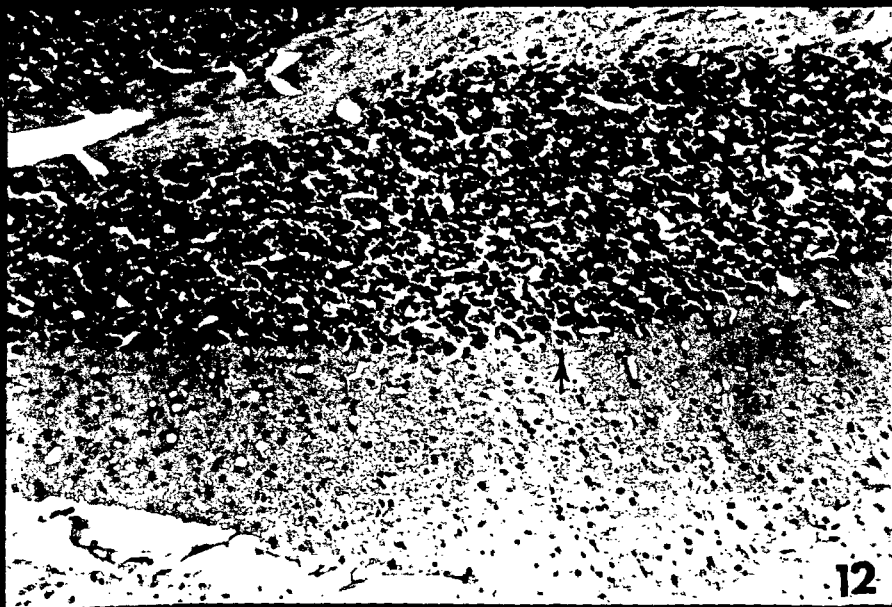
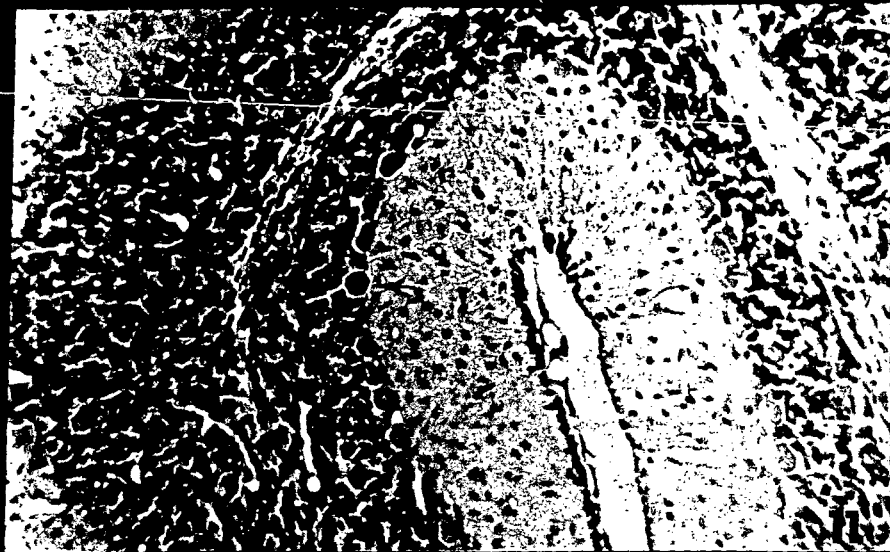


Figura 11. No se aprecia la forma piriforme típica de la línea de células de Purkinje (flecha), lo que sugiere inmadurez de esta estirpe. Corte de una cría expuesta prenatalmente del día 8 al 21 gestacional.

Fig. 12. No se visualiza la línea de células de Purkinje como una monocapa (flecha). El desarreglo en la posición de estas células es sugestivo de retardo en el desarrollo intrauterino en cerebelo de una cría prenatalmente expuesta.



## DISCUSION

La inhalación de tolueno afectó la actividad dopaminérgica de las ratas preñadas (17), esto posiblemente provocó la hiperactividad inicial observada en los animales y el periodo de depresión y relajamiento muscular subsecuentes. Este comportamiento fue similar al reportado por otros investigadores (30), quienes concluyeron que durante la exposición aguda de ratas a solventes orgánicos interactúan dos mecanismos de acción del tóxico;

- 1 El solvente puro incrementa la actividad locomotora.
- 2 El efecto sedante de los metabolitos resultantes del solvente.

Debido a que el tiempo de exposición fue breve (20 min/día) y el nivel de exposición bajo (debido al sistema de ventilación de la cámara) las ratas se recuperaban rápidamente, por lo que no se afectó el apetito ni la sed de los animales, factor que contribuyó a un proceso de gestación aparentemente normal. Tampoco se afectó el número de crías por parto (Cuadro 1), ni hubo muerte prenatal por efecto del solvente, los casos de muerte ocurridos en el grupo expuesto a partir del último tercio de gestación no pudieron asociarse con los efectos del tolueno, ya que no se pudo establecer la causa de la muerte, aparte de que este modelo experimental no fue tan lesivo.

La inhalación de tolueno afectó la embriogénesis y maduración neuronal de la corteza cerebelar de las crías, el grupo expuesto durante toda la gestación fue el mas dañado



(Fig.1).

Los resultados de los parámetros somatométricos (Cuadro 2), no revelaron daños importantes relacionados directamente con la exposición en ninguna de las dos edades estudiadas, a excepción del peso corporal y longitud craneocaudal del grupo expuesto el último tercio de gestación, en éste al parecer la interacción tolueno-membrana celular (21), provocó pérdida del equilibrio hidrostático intravascular/fluido intersticial trayendo como consecuencia retención anormal de líquidos, que incrementaron el peso corporal, (Cuadro 2).

Por otra parte, algunas de las crías de este mismo grupo presentaron malformación de la columna vertebral. Existen reportes clínicos de la teratogenicidad del solvente como la observada en este grupo. Algunos niños prenatalmente expuestos a solventes mostraron al nacimiento deformidades en miembros y cráneo (4).

A excepción del peso cerebelar en ambas edades, los resultados obtenidos de las dimensiones y pesos encefálicos revelaron que por efecto de la exposición se desarrolló un mecanismo de tolerancia, similar al observado durante la exposición aguda a ciertos solventes halogenados (31). Por otra parte, a los 20 días de edad sucedió recuperación parcial de la mayoría de los daños causados por el solvente.

El peso cerebelar de las crías expuestas toda la gestación se redujo por el solvente, asimismo en el análisis histológico se determinaron daños más severos en este mismo grupo, sin que hubiera recuperación de esta lesión.

Estos resultados concuerdan con otros estudios experimentales en los que se realizaron exposiciones a dosis subagudas (32), en estos se evidenciaron diferencias bioquímicas regionales en la respuesta cerebral y el cerebelo fue el órgano más sensible a los daños causados por solventes orgánicos.

Por otro lado, debido a que las crías experimentales mostraron un comportamiento semejante a las controles se infiere que las alteraciones identificadas no representan deficiencias funcionales, ni son incompatibles con la vida. Sin embargo, es necesario realizar pruebas de comportamiento neuropsicológico y neurofisiológico para determinar la existencia de daños más finos al sistema nervioso central.

La menor celularidad observada en la corteza cerebelar del grupo expuesto durante toda la gestación pudo deberse a una inhibición en la síntesis proteica causada directamente por el solvente (30) durante la etapa de desarrollo cerebelar, o a un estado hipóxico causado por el mismo solvente, que al atravesar la barrera hematoplacentaria disminuyó el aporte de oxígeno y con ello se inhibieron los ciclos metabólicos glucolíticos del embrión, y por último a la pérdida de la permeabilidad selectiva de la membrana neuronal debido a las alteraciones de su fluidez a causa del solvente (20).

El retraso en la migración de las células granulares en el grupo 8-21 y la desorganización de las células de Purkinje en el grupo 15-21 observados a los 20 días (Figs. 9,12 ) pudieron deberse a una inhibición de la síntesis de

neurotransmisores, que dió como resultado la interrupción de los procesos de maduración neuronal (31).

La pérdida neuronal es irreversible, no así el atraso en la maduración de las estirpes cerebelares, lo que depende del medio ambiente en el que se desarrollan las crías afectadas, puesto que se ha observado en animales experimentales un mecanismo de crecimiento compensatorio de las vías neuronales que sobreviven a una lesión, el cual ha sido llamado "regeneración colateral" y que podría actuar en la respuesta post-lesional al tolueno (33).

El modelo de exposición experimental de este trabajo se puede comparar a situaciones de exposición laboral en humanos, en las que la madres gestantes se exponen a niveles menores de los que un sujeto puede alcanzar en la exposición voluntaria y además durante intervalos regulares, análogos a un horario de trabajo.

## CONCLUSIONES

1. La exposición al tolueno no afectó el desarrollo normal de la preñez.
2. No se redujo el número de productos al nacimiento, ni sucedieron abortos a causa del solvente.
3. La severidad de los daños histológicos identificados en las crías estuvo directamente relacionada con el tiempo total de exposición.
4. Las principales alteraciones pueden resumirse en: retardo en la maduración cerebelar y disminución del número normal de células en la corteza cerebelosa.
5. El cerebelo resultó un buen modelo para estudiar los efectos sub-agudos del tolueno en SNC de ratas expuestas durante la gestación.

## BIBLIOGRAFIA

1. Enciclopedia Universal Ilustrada. Europeo-Americana. Ed. Espasa Calpe. S.A. Madrid Barcelona. Tomo 62 pp 555-556.
2. Campbell, L., Marsh, Wilson, H.K., (1987). Towards a biological monitoring strategy for toluene. *Occup Hyg.*, 31 (2):121-133.
3. Dick, Robert B., James V., Setzer Wait, R., Hayden M.B., Boboy, Tayloy J., Tabs B., Putz-Anderson. (1984). By acute exposure to toluene and metil-etil-ketona in performance psicomotor. *Int Arch occup Environ Health.*, 54(2):91-110.
4. Hersh, J., Pudruch E. P., Rogers, G., Weisskap, B.(1985). Toluene Embriopaty. *J of Pediat.*, 106:922-927.
5. Abdolreza, E., Freeman, F.R. (1983). Progressive optic neuropathy and sensorineural hearing loss due to chronic glue sniffing. *J of Neurol Neurosurg and Psichiat.*, 46:349-355.
6. Valciukas, A.J., Lilis M.R., Singer M.R., Nicholson, W.(1985). Neurobehavioral changes among shypyard painters exposed to solvents. *Arch Environ Health.* 40 (1):47-52.
7. Ddkvist, C. M., Larsby J., Hayden D., Bergholtz L.M. (1989). Otoneurological findings in Psicho-organic syndrome caused by industrial solvent exposure. *Acta otorynolangol (Stockh)*, 107:5-12.

8. Antti-Poika, M., Juntunen, J., Matikainen, E., Suoronta, H., Hänninen, H., Seppäläinen, A.M. y Liira J. (1985). Occupational exposure to toluene: neurotoxic effects with special emphasis on drinking habits. *Int Arch Occup Environ Health.*, 56:31-40.
9. Escobar, A. Aruffo., Jimenez G., (1984). Efecto neurotóxico de los disolventes industriales y otros compuestos. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Ciencias Biológicas.* 5(3):4-6.
10. Berstad, J., Flekky, K., Pedersen, O.N. (1989). Encephalopathy and polyneuropathy induced by organic solvents. *J of Oslo City Hosp.*, 39 (6-7); 81-6.
11. Filley, C. M., Heaton, R.K., Rosenberg, N.L. 1990. White matter dementia in chronic toluene abuse. *Neurology*, 40 (3 Pt 1): 532-40.
12. Toftgard, R., Nielsen, G. A., Gustafsen, J.A. (1982). Dose dependent induction on rat liver microsomal cytochrome P-450 and microsomal enzymatic activities after relation of toluene and dichloromethane. *Acta pharmacol toxicol.*, 51(2):108-114.
13. Rodriguez, Segura A. (1986). Efectos de la exposición materna a thinner o aguarrás al final de la gestación sobre el desarrollo corporal y de la corteza cerebral de ratas recién nacidas. Tesis Profesional de Licenciatura. F.M.V.Z. Universidad de Guadalajara.

14. Holmberg, P.C. (1979). Central-nervous system defects in childrens borns to mothers exposed to organic solvents during pregnancy. *The Lancet*, 2:177-179.
15. Eskenazi, B., Gaylord L., Bracken M., Brocun D. (1988). In utero exposure to organic solvents. *Dev Med Child Neurol.*, 30 (4):492-501.
16. Lorenzana, J., Marte-Salas, M. (1980). Effects of neonatal exposure to paint thiner on development of swimming in rats. *Neurobeh Toxicol.*, 2:1-6.
17. Yamawaki, S., Sarai, K. 1982. Effects of toluene inhalation on locomotor activity and brain catecholamines levels in rats. *J of Psychopharmacol.*, 2(1); 57-60.
18. Fornazari, L, Wilkinson, Kapur, Corlen P, C., (1983). Cerebellar cortical and functional impairment in toluene abusers. *Acta Neurol Scand.*, 67:319-329.
19. Kenneth, N., Schikler., Kent, Seitz., Rice, F. John Strader, T. (1982). *J of Adolescent Health Care.*, 3(1):37-40.
20. Lazar, R.B., Ho S.U., Melen O., daghestani, A.N. (1983). Multifocal Central Nervous sistem damage caused by toluene abuse. *Neurology.*, 33: 1337-40.
21. LeBel, C.P., Schatz, R.A. 1989. Effect of toluene on rat synaptosomal phospholipid methylation and membrane fluidity. *Biochem Pharmacol.*, 38(22); 4005-11.
22. Bañuelos, Pineda J. (1987). Alteraciones en cerebello de productos de ratas expuestas a la inhalación de éter o cloroformo al final de la gestación. Estudio histológico semicuantitativo. Tesis profesional de Licenciatura. F.M.V.Z.

Universidad de Guadalajara.

23. Altman, J., Bayer, S. (1978). Postnatal development of the cerebellar system in the rat. *J of Comp Neurol.*, 179:23-48.
24. Bauer-Moffett, C., Altman, J. (1977). The effect of ethanol chronically administered to preweanling rats on cerebellar development: A morfological study. *Brain Res.*, 119:249-268.
25. Sell J.F., Blank K. N., Leiman, L. A. (1979). Toxic effects kainic acid on mouse cerebellum in tissue culture. *Brain Res.*, 161:253-265.
26. Patton, H. D., Crill, W.E., Swanson P.D., Sundsten J.W. (1976). *The cerebellum: Introduction to basic neurology.* W.B. Saunders Company. E.U. pp 289-298.
27. Novack, Charles R., Demarest, R.J. (1975). *Cerebellum. The human nervous system: Basic principles of neurobiology.* McGraw Hill U.S.A. pp 289-304.
28. Haddad, G. G., Getting, A. P., (1989). Repetitive firing of neurons in the ventral region of nucleus tractus solitarius. *In vitro* studies in adult and neonatal rat. *J of Neurophy.*, 6:1213-22.
29. Ya-Lun-Chow. (1977). *Análisis estadístico.* Ed. Interamericana, 2da. edición. México, D.F. pp 302-312.
30. Kjellstrand, P., Mansson L., Holmquist B., Jonsson, I. 1990. Tolerance during inhalation of organic solvents. *Pharmacol Toxicol.*, 66(5):409-14.



31. Juorio, A.V., Yu, P.H. (1985). Effects of benzene and other organic solvents on the decarboxylation of some brain aromatic-  
l-aminoacids. *Bioch Pharma.*, 34(9); 1381-87.
32. Huang, J., Kato, K., Shibata, E., Isanaga, N., Ono, Y.,  
Takeuchi, Y. (1990). Effects of subacute toluene exposure on  
neuronal and glial marker proteins in rat brain. *Toxicology*,  
61(2); 109-17.
33. Grady, M.S., Jane, J. A., Steward, O. (1989). Synaptic  
reorganization within the human central nervous system  
following injury. *J of Neurosurg.*, 71: 534-537.