

1989-1

081310254

---

---

# Universidad de Guadalajara

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ALTERACIONES DEL DESARROLLO CELULAR POSNATAL EN LA  
CORTEZA CEREBRAL DE PRODUCTOS DE RATAS EXPUESTAS  
A LA INHALACION, PASIVA O DE HUMO SECUNDARIO DE  
TABACO, EN DIFERENTES ETAPAS GESTACIONALES.

---

---

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

MA. DE LOURDES GARCIA CUEVAS

GUADALAJARA, JALISCO.

1992

---

---



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Sección .....

Expediente .....

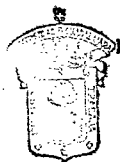
Número ...0232/91.....

SRITA. MA. DE LOURDES GARCIA CUEVAS  
 P R E S E N T E . -

Manifiestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "ALTERACIONES DEL DESARROLLO CELULAR POSTNATAL EN LA CORTEZA -- CEREBRAL DE PRODUCTOS DE RATAS EXPUESTAS A LA INHALACION PASIVA O DE HUMO SECUNDARIO DE TABACO EN DIFERENTES ETAPAS GESTIONALES" para obtener la Licencia tura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como -- Director de dicha Tesis el M.V.Z. Jacinto Bañuelos Pineda.

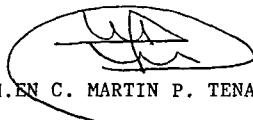
A T E N T A M E N T E  
 " PIENSA Y TRABAJA "  
 Guadalajara, Jal., 23 de abril de 1991.  
 EL DIRECTOR



FACULTAD DE  
 CIENCIAS BIOLÓGICAS

M. EN C.  CARLOS BEAS ZARATE

EL SECRETARIO



M. EN C. MARTIN P. TENA MEZA

c.c.p.- El M.V.Z. Jacinto Bañuelos Pineda. Director de Tesis.-Pte.  
 c.c.p.- El expediente del alumno.

CBZ/MPTM/cglr.

Al contestar este oficio citese fecha y número

C. M en C Jose Luis Cifuentes Lemus.  
Director de la Facultad de Ciencias  
Biológicas de la Universidad de  
Guadalajara.

P R E S E N T E

Apreciable Maestro Cifuentes: por este conducto me permito informarle que la P. de Biol. MA. DE LOURDES GARCIA CUEVAS ha concluido satisfactoriamente el trabajo de investigación:

"ALTERACIONES DEL DESARROLLO CELULAR POSNATAL EN LA CORTEZA CEREBRAL DE PRODUCTOS DE RATAS EXPUESTAS A LA INHALACION PASIVA, O DE HUMO SECUNDARIO DE TABACO, EN DIFERENTES ETAPAS GESTACIONALES", bajo mi dirección.

Por lo anterior solicito a Ud. su autorización a fin de programar la presentación de su exámen 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

  
-----  
MVZ. Jacinto Bañuelos Pineda

Guadalajara Jal. Abril 30 de 1992.

## DEDICATORIAS

### A MIS PADRES:

Socorro Cuevas Martínez

Miguel García Ornelas

Con cariño y respeto por haber contribuido en mi formación personal y profesional, por alentarme siempre a seguir adelante.

### A MIS HERMANOS:

Por su apoyo, ayuda y confianza que me brindaron a lo largo de mi carrera.

## AGRADECIMIENTOS

A todas aquellas personas que de alguna manera contribuyeron con su asesoría docente y de laboratorio para la terminación de esta tesis y sobre todo por sus palabras de apoyo y amistad desinteresada.

Así mismo a mis amigos, aquellos que una vez me enseñaron a conservar la esperanza en la vida y me impulsaron a seguir siempre adelante

Por todo y a todos gracias.

EL PRESENTE TRABAJO SE DESARROLLO EN EL  
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION CIENTIFICA  
DE LA FAC. DE MED. VET. Y ZOOT. Y FAC. DE  
MEDICINA CON APOYO FINANCIERO OTORGADO  
POR EL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION  
CIENTIFICA Y SUPERACION ACADEMICA DE LA  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.

1989-1

081310254

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ALTERACIONES DEL DESARROLLO CELULAR POSNATAL EN LA CORTEZA  
CEREBRAL DE PRODUCTOS DE RATAS EXPUESTAS A LA INHALACION, PASIVA O  
DE HUMO SECUNDARIO DE TABACO, EN DIFERENTES ETAPAS GESTACIONALES.

Trabajo de Tesis que para obtener la  
Licenciatura en Biología  
presenta:

MA. DE LOURDES GARCIA CUEVAS

DIRECTOR DE TESIS: MVZ Jacinto Bañuelos Pineda

ASESORES: M. en C. Esther Albarrán Rodríguez

M. en C. Joaquín García Estrada

Guadalajara Jalisco., Septiembre de 1992

ALTERACIONES DEL DESARROLLO CELULAR POSNATAL EN LA CORTEZA  
CEREBRAL DE PRODUCTOS DE RATAS EXPUESTAS A LA INHALACION, PASIVA O  
DE HUMO SECUNDARIO DE TABACO, EN DIFERENTES ETAPAS GESTACIONALES.



## I N D I C E

Contenido	Página
Introducción .....	1-9
Justificación .....	10
Hipótesis .....	11
Objetivos .....	12
Materiales y métodos .....	13-17
Resultados .....	18-45
Discusión .....	46-50
Conclusiones .....	51-52
Referencias .....	53-57

### INTRODUCCION

El tabaco es una droga cuyo consumo forma hábito, el número de fumadores mundiales continúa en aumento y como consecuencia resulta: cáncer pulmonar, bronquial, enfisema, asma y cardiopatías<sup>1,2</sup>.

Durante la combustión se producen dos tipos de humo: el secundario, es el que llega al ambiente directamente desde la zona de pirólisis (exposición a humo secundario) y el humo principal es el que exhala el fumador (exposición pasiva)<sup>3</sup>.

La principal sustancia tóxica del tabaco es la nicotina<sup>4</sup>. Una persona absorbe de 2.5 a 3.5 mg de ésta después de fumar un cigarrillo<sup>5</sup>. Aproximadamente el 30% del total de la nicotina del humo hace contacto con la boca del fumador (fumador activo). La cantidad de tabaco consumida por cigarrillo (excluyendo la colilla) suele ser de 0.7 a 1.0 g, con 9-17 mg de nicotina. El resto de humo pasa al aire ambiental, por lo que resultan expuestos los sujetos cercanos al fumador (fumadores pasivos)<sup>3,6</sup>. Mediante un monitor personal se calculó la concentración promedio de nicotina ambiental en menos de 45 mg\m<sup>3</sup> de aire en lugares donde se fuma, como interiores de carros, cafés, tiendas y cantinas, mientras que la cantidad máxima estimada después de un día de exposición fue de 310 mg<sup>7</sup>.

Otro de los principales factores de toxicidad es el monóxido de carbono (CO), es 300 veces más afin a la hemoglobina (Hb) que el oxígeno, con la que forma carboxihemoglobina (HbCO) incapaz de transportar oxígeno. Esto trae como consecuencia hipoxia

tisular<sup>8,9</sup> cuyos efectos resultantes dependen del nivel y duración de la saturación de sangre con CO. La exposición a 4,000 ppm durante una hora es fatal<sup>10</sup>.

Al fumar se inducen sistemas enzimáticos microsómicos, su aumento de actividad en los hepatocitos no es considerable, y no explica la tolerancia que se desarrolla para los efectos del tabaco o la nicotina. Los índices medios de eliminación de sustancias metabolizadas por los sistemas enzimáticos microsómicos hepáticos suelen ser mayores en quienes fuman que en los no fumadores, pero aun hay gran superposición entre los límites<sup>3</sup>.

#### Alteraciones bioquímicas y fisiológicas por exposición al humo del cigarro durante el periodo de gestación.

El bióxido de carbono que se libera durante el consumo de tabaco interfiere con el transporte de oxígeno al feto, lo que afecta el crecimiento y conduce a un mayor riesgo de muerte intrauterina y neonatal<sup>11</sup>. Al elevarse la carboxihemoglobina resulta hipoxia fetal, una madre fumadora alcanza normalmente un 5% de carboxihemoglobina, en un sujeto no fumador la concentración es menor a 1%. La deficiencia de oxígeno en el embrión puede tener un efecto adverso sobre el desarrollo mental<sup>12,13</sup>.

Al estudiar el efecto de fumar sobre la maternidad en varios niños con edades comprendidas entre los 7 y los 11 años de edad, Buttler y Goldstein (1973) encontraron cifras levemente más bajas de capacidad de lectura, resolución de problemas matemáticos y

habilidad general escolar entre los niños cuyas madres habían fumado activamente durante el embarazo<sup>11</sup>.

Tanto el CO como la nicotina del cigarro son los principales factores de riesgo cuando el hábito es crónico y desencadenan enfermedades cardíacas coronarias solas o asociadas con otras patologías, como caída de la presión arterial sistólica y aumento del conteo plaquetario venoso y niveles de fibrinógeno plasmático<sup>14,15</sup>. El consumo de cigarrillos daña las arterias uterinas y puede producir zonas de necrosis en la placenta, lo que tiende a disminuir el flujo de sangre y facilita el desprendimiento prematuro de placentas normoinseridas. Como consecuencia de la isquemia placentaria puede resultar embolia, muerte cerebral o hemorragias subaracnoideas, constricción de vasos sanguíneos uterinos con acumulación de hidrocarburos aromáticos e intoxicación por CO con hiperplasia, como respuesta placentaria compensatoria<sup>16,17</sup>.

En el SNC de fetos se produce incremento del ADN y de la concentración de dopamina, específicamente en el neocórtex, por la elevación en los niveles de CO<sub>2</sub> cuando se consumen bastantes cigarrillos durante estadios tempranos de la gestación, esto indica que se afectan los mecanismos de proliferación neuronal y sinaptogénesis<sup>18</sup>, ya que la nicotina penetra en SNC rápidamente y es captada en particular por corteza cerebral<sup>3</sup>.

Cuando se lesiona el SNC fetal como resultado de las alteraciones en el intercambio gaseoso transplacentario y los efectos tóxicos que provocan diversos compuestos en el tabaco, se lesionan también las glándulas de regulación endócrina, entre éstas

la hipófisis, por lo que se manifiestan distintas anormalidades funcionales en los demás órganos que están regulados por ésta. La administración local de nicotina a las células de Purkinje en el cerebelo de rata reduce las descargas eléctricas espontáneas, con efecto reversible y dosis dependiente, lo que demuestra la capacidad inhibitoria de la nicotina para ésta estirpe celular<sup>19</sup>.

Por estudios realizados con nicotina en concentraciones similares a las de la sangre de los fumadores se observó que estimula la liberación de dopamina en núcleos específicos del sistema mesolímbico<sup>20</sup>. La concentración de nicotina en el plasma venoso aumenta gradualmente hasta un máximo que se alcanza aproximadamente al terminar de fumar un cigarrillo, y es de 15-20 ng/ml. La disminución al principio es rápida y aparentemente exponencial con una desintegración de 10-20 minutos. Cuando los valores en plasma alcanzan 10-15 ng/ml el ritmo de disminución es más lento y al parecer de orden cero, aproximadamente de 5ng/hora. La primera fase en la caída de la concentración máxima, en plasma, corresponde al período en que se obtiene el equilibrio de distribución con los tejidos y la segunda fase a la eliminación<sup>3</sup>.

Los efectos de la nicotina en la descarga celular son mediados por receptores ganglionares estereoespecíficos y sensitivos a la mecamilamina<sup>21,22</sup>, bloqueador ganglionar que antagoniza la inhibición de las células de Purkinje, más no la excitación sináptica<sup>23</sup>.

### Efectos del humo del cigarro sobre fumadores pasivos

El hecho de que el fumador no inhale el humo ofrece poca protección ya que numerosas sustancias tóxicas pueden ser absorbidas a través de la mucosa de la boca lo mismo que por inhalación<sup>11</sup>. Dentro de los 40 primeros minutos de exposición al humo sucede aumento en la concentración de carboxihemoglobina en la sangre<sup>24</sup>.

Se ha establecido que existe una relación entre el hábito de fumar y la ocurrencia de preñez tubárica, posiblemente la duración del hábito influye sobre lo anterior, al igual que otras condiciones como la edad en que se empezó a fumar, el número de cigarros al día y otras. Sin embargo, está demostrado que esta patología es otra consecuencia de inhalar humo de tabaco<sup>17</sup>.

En trabajos experimentales con ratas que inhalan humo de tabaco se reportaron alteraciones semejantes a las descritas en madres fumadoras activas (humanas), ya que también resultó disminución del número de crías nacidas y reabsorciones embrionarias<sup>25</sup>.

Como resultado de la exposición a la nicotina durante la vida intrauterina el peso corporal de las crías de rata se reduce significativamente, la disminución es mayor cuando la exposición sucede durante la lactancia, ya que el humo de tabaco tiene un efecto inhibitor sobre el depósito de grasa en crías, lo cual hace más susceptible al plasma LDL (baja densidad lipoproteínica) y modifica la actividad peroxidativa subsecuente por elementos celulares<sup>26,27,28</sup>.

### Histología de corteza cerebral

En la corteza cerebral de mamíferos como: el hombre, gato y rata se distinguen seis estratos celulares, con las siguientes características.

1.- Capa Molecular o Plexiforme. Este estrato superficial consta principalmente de fibras nerviosas delicadas. Las prolongaciones dendríticas provienen de las células piramidales y fusiformes. Las fibras axónicas se originan en un área cortical de cualquier parte del mismo hemisferio opuesto y en el tálamo. En algún estrato más profundo las células de Martinotti también contribuyen con axones. Escasas células horizontales de Ramon y Cajal y células estrelladas esparcidas se interponen entre algunos axones y dendritas. Dichas células horizontales decrecen en número durante la vida posnatal.

2.- "Estrato Granular Exterior" (capa de pequeñas células piramidales). Esta capa es muy rica en neuronas pequeñas, tanto células piramidales como células estrelladas. Numerosas dendritas de estas células se extienden al estrato molecular, la mayoría de los axones terminan en estratos más profundos y el resto penetran a la sustancia blanca.

3.- "Estrato Celular Piramidal" (capa de células piramidales de mediano y gran tamaño). Son células piramidales típicas, que aumentan en tamaño desde la superficie a la profundidad del estrato. Las dendritas apicales se extienden al campo sináptico del estrato superficial, los axones de las células piramidales penetran a la sustancia blanca y van a su destino como fibras de proyección de asociación o comisurales.

4.- "Capa Granular Interna". Está formada de células estrelladas

cercanas, muchas de las cuales reciben estímulos de fibras que se originan en el tálamo. Los axones cortos de las células estrelladas terminan en dendritas que pasan a través de la capa proveniente de células de los estratos 5 y 6 y en otras células estrelladas y de Martinotti.

5.- "Estrato Ganglionar" (capa piramidal interior). Contiene células piramidales entremezcladas con células estrelladas dispersas y células de Martinotti. El estrato debe su nombre "ganglionar" a células piramidales gigantes o células de Betz, aunque éstas se limitan a la corteza motora del giro precentral. Las células de Betz forman el 3% de fibras más largas en el tracto piramidal.

6.- "Estrato de Células Fusiformes" (capa de células polimorfas). Se encuentra limitando con la substancia blanca. Aunque estas células constituyen la característica más notable del estrato, hay células adicionales de varias formas. El estrato cortical más profundo es predominantemente eferente, dando origen a fibras que van a cualquier lado de la corteza o a centros subcorticales<sup>29,30,31</sup>.

#### Embriología del sistema nervioso central de la rata.

Principales acontecimientos durante la vida prenatal:

8-9 días. Aparece la placa neural.

9-10 días. La forma neural se pliega y comienza a fundirse en la región de los somites 2-6, la cresta neural está formada en conexión al plegamiento neural y ectodermo superficial



10-11 días. Tres vesículas cerebrales están presentes, el prosencéfalo, mesencéfalo y el rombencéfalo, aparece el infundíbulo como una depresión en el piso del prosencéfalo, el ganglio craneal empieza su formación, el tubo neural es cerrado a excepción del neuroporo anterior y posterior.

11-12 días. Cinco vesículas cerebrales están presentes: el telencéfalo, diencefalo, mesencéfalo, metencéfalo y el mielencéfalo. El neuroporo anterior se cierra, seguido después por el neuroporo posterior. Las cavidades de Rathke hacen contacto con el infundíbulo formando la primordia de la hipófisis, en el diencefalo el hipotálamo es distinto al área dorsal talámica.

12-13 días. Los hemisferios cerebrales están presentes y las fisuras coroides son identificables.

13-14 días. Se forma la primordia de los canales semicirculares, el primordium del cerebelo está presente como una placa engrosada en el metencéfalo, los plexos coroides aparecen en el primero, segundo y cuarto ventrículos.

15 día. Aparece el plexo coroide en el tercer ventrículo.

16-17 días. La fisura coroidal está completamente cerrada.

19-20 días. En el mesencéfalo el cuadrígémino corporal es reconocible<sup>32</sup>.

Durante la vida posnatal la neuroglia, el neurolema y las células capsulares pueden proliferar, pero las neuronas no se reproducen a partir del nacimiento del sujeto. Si se destruyen, no serán substituidas<sup>33</sup>.

Por lo anteriormente señalado, el presente estudio tiene la intención de demostrar las alteraciones en el desarrollo corporal y

patrón de maduración posnatal de la corteza cerebral, así como comparar la severidad de dos modelos distintos de exposición prenatal al humo de tabaco, mediante una metodología específica llevada a cabo en ratas y que trata de reproducir estas dos formas de exposición tan comunes en la sociedad contemporánea logrando así determinar la magnitud de los trastornos producidos.

## JUSTIFICACION

Actualmente el consumo de cigarrillos está en constante aumento, por lo que cada vez se afecta un mayor número de personas, pero no solo los fumadores activos sino también los llamados "fumadores pasivos". En ambas categorías se encuentran numerosas madres gestantes, cuyos productos tienen el riesgo de resultar afectados en grado variable por la inhalación del humo de tabaco. Por lo anterior, es necesario aumentar la información disponible acerca de las alteraciones fetales del SNC que resultan en dicho proceso, tomando en cuenta la vulnerabilidad de este tejido a las condiciones que genera dicho hábito, utilizando para ello modelos animales, en los que no influyen factores como: nivel educacional, estado de salud y medio en que se desenvuelve la madre, entre otros y en los que es posible un mejor control de las condiciones experimentales. Con la información que se genere será posible aumentar la comprensión sobre la fisiopatología de este proceso.

## HIPOTESIS

La inhalación pasiva o de humo secundario de tabaco durante la gestación provoca trastornos que reducen el aporte de nutrientes y oxígeno al feto, por lo que se afecta el desarrollo normal de su sistema nervioso central.

## OBJETIVOS

### GENERAL

Determinar las alteraciones morfológicas de la corteza cerebral durante el desarrollo celular posnatal de productos de ratas expuestas a la inhalación pasiva o de humo secundario de tabaco en diferentes etapas gestacionales.

### PARTICULARES

1.- Comparar el peso y tamaño corporal, peso y dimensiones cerebrales de productos de ratas testigo y experimentales a los 20 y 60 días de edad.

2.- Realizar un estudio semicuantitativo de la densidad numérica neuronal y glial en la corteza cerebral temporal.

## MATERIALES Y METODOS.

Para el presente trabajo se utilizaron 35 ratas adultas SPRAGUE-DANLEY del segundo parto alojadas en jaulas individuales y mantenidas bajo condiciones de bioterio con una temperatura de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2$  y una humedad relativa ambiental de 40 al 50%, controladas en ciclos de 12:12 h luz-oscuridad. Alimentadas a libre acceso con dieta balanceada para roedores.

Mediante citología exfoliativa vaginal se determinó la etapa de estro, para luego dejar 3 ratas con un macho por una noche y determinar el primer día de preñez mediante la identificación de espermatozoides en un frotis vaginal. Con las hembras gestantes se formaron siete grupos de 5 ratas cada uno. Los animales experimentales se dividieron en dos grupos: exposición a humo secundario (es el que llega al ambiente directamente desde la zona de pirólisis) y el humo principal o exposición pasiva (es el que exhala un fumador) y a su vez cada uno de estos en tres subgrupos de 5 ratas que fueron expuestas por tres diferentes períodos: del primer día de la gestación hasta el día 21 (gestación completa), a partir del día 8 al 21 (dos últimos tercios de la gestación) y del día 15 al 21 (último tercio de la gestación). En todos los casos las ratas gestantes fueron expuestas por 10 min, en una atmósfera saturada con humo proveniente de 1.5 gr de tabaco previamente incinerado dentro de una cámara de exposición para el grupo de humo secundario y con la misma cantidad de tabaco, solo que exhalado por un fumador voluntario para el grupo pasivo.

Durante los días correspondientes a cada subgrupo se

realizaron dos exposiciones diarias con un intervalo de 8 horas entre cada una. Para lo anterior se utilizaron cigarrillos sin filtro con contenido normal de nicotina y alquitran.

Las cinco ratas restantes formaron el grupo testigo, las cuales permanecieron intactas sin ninguna manipulación a través del estudio. La exposición se realizó en una cámara hermética rectangular de cristal con 40 l de capacidad, en la parte superior de las dos paredes laterales se dejó un orificio circular de ventilación (de 2 cm de diámetro) que fue cerrado para incinerar el tabaco y saturar el ambiente, para luego introducir dos ratas. Los orificios se mantuvieron abiertos durante la exposición. Al momento del parto se determinó el número de productos nacidos vivos o muertos de las hembras testigo y experimentales y se registró el peso individual de las crías en una balanza granataria para pequeñas especies, así como la longitud craneo-caudal mediante el uso de un Vernier, para luego en forma aleatoria ajustar las camadas a 8 crías por rata. A los 20 y 60 días de edad posnatal de cada rata se separaron al azar 2 crías que fueron sometidas a perfusión intracardiaca, para luego por craneotomía extraer el encéfalo completo y posteriormente separar el cerebro y registrar su peso, longitud encefálica (antero-posterior), anchura cerebral (longitud transversal) y espesor cerebral (longitud dorso-ventral) (Fig. I)<sup>34</sup>. Para la perfusión se anestesiaron profundamente los animales con cloroformo y una vez que se fijaron con cinta adhesiva a una base de madera se realizó una toracotomía amplia para exponer el corazón e introducir en el ventrículo izquierdo una aguja corta biselada No.23 para inmediatamente después hacer

pasar una solución lavadora Ringer-Krebs con procaína al 0.1% y heparina 1,000 (UI/1) a 37°C, pH 7.3, 0.1 M y 280 Mosm/l bajo una presión de 130 cm de agua por 3 min, seguida de una solución fijadora de glutaraldehído al 2.5% y formaldehído al 1% amortiguados en fosfatos 0.1 M, pH 7.3 y 583 Mosm/l por 8 min<sup>35</sup>. Después de la perfusión se realizó craneotomía para extraer el cerebro para posfijarlo en la misma solución fijadora durante una noche a 4 °C, y luego lavarlos mediante 2 cambios de 15 min con amortiguador de fosfatos 0.1 M y deshidratarlos en series crecientes de etanol (70, 90, 96, 100 %) y mezclas de etanol/xilol 1:1 y xilol para luego incluirse en parafina y obtener cortes medio sagitales de 5 a 6  $\mu$ m de espesor en un microtomo manual American-Optical SL/20. El material fue teñido con Hematoxilina-Eosina para posteriormente realizar el análisis semicuantitativo, este consistió en proyectar la imagen de la corteza cerebral temporal sobre una hoja tamaño carta y se señaló en ésta la población celular tanto neuronal como glial contenidas en un rectángulo de dimensiones establecidas para cada una de las edades estudiadas que incluya todos los estratos comprendidos desde el límite inferior de capa molecular hasta el inicio de sustancia blanca en la zona profunda. La cuantificación se hizo en base a la identificación morfológica de las células cuyo núcleo esté comprendido completamente en el rectángulo (144 cm<sup>2</sup> equivalente a 2 mm<sup>2</sup> de tejido). Para obtener un valor promedio se analizaron tres laminillas provenientes de 3 cerebros diferentes y en cada una de estas se hizo la cuantificación en 3 cortes a distinta profundidad de la misma zona. Para lo anterior se utilizó un proyector de



laminillas con objetivo 10x Karl-Zeiss.

El análisis de los datos obtenidos por este estudio se realizó mediante el método estadístico de "t" Student con un límite de significancia de  $P < 0.05^{37}$ .

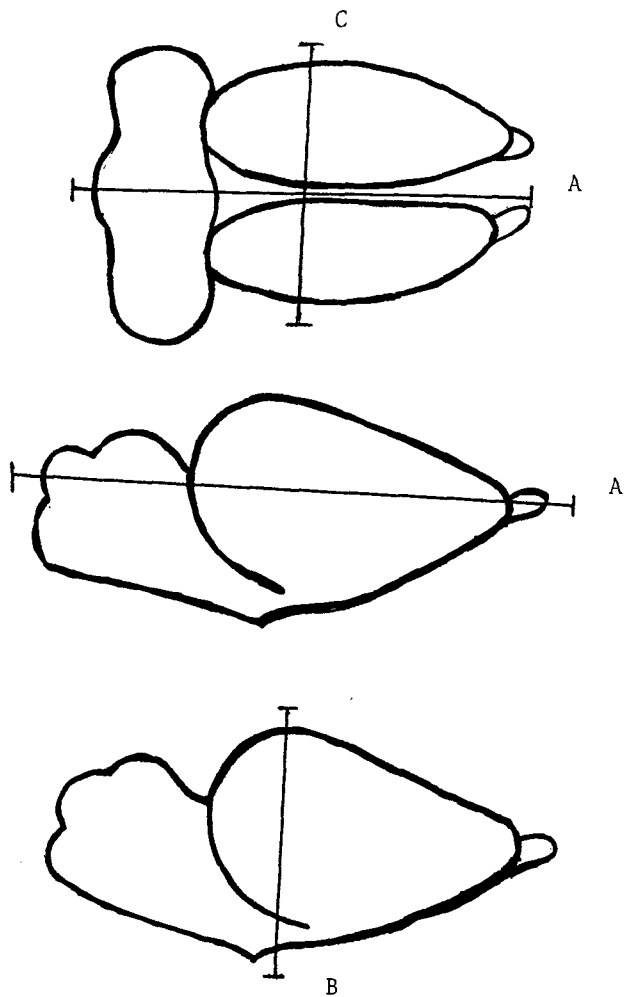


Fig. I

- A. Longitud Antero-Posterior
- B. Longitud Dorso-Ventral (Espesor cerebral)
- C. Longitud Transversal (Anchura Cerebral)

## RESULTADOS.

En estudios previos realizados en el Dpto. de Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, se encontró que las hembras gestantes tanto de exposición a humo secundario (EHS) como exposición pasiva (EP) mantuvieron un consumo normal de alimento y agua independiente del tiempo de tratamiento, por lo que el peso corporal semanal se incremento normalmente en relación a la etapa de gestación. El número de productos nacidos por madre fué semejante en los grupos testigo y experimentales. La mortalidad en EHS y EP al nacimiento fueron mayores en los grupos expuestos durante el último tercio de la gestación<sup>37,38</sup>.

## PARAMETROS SOMATOMETRICOS

Peso corporal: a los 20 días de edad, solamente el peso corporal de los grupos 8-21 de EHS, 8-21 y 15-21 de EP mostraron diferencia significativa con respecto al testigo puesto que sus valores fueron menores al de este último grupo. Asi mismo se analizó el efecto del tipo de exposición sobre la etapa de gestación para lo cual se compararon los promedios de grupos de periodos iguales pero de diferente exposición (exposición/periodo) con el propósito de determinar la severidad de ambos tratamientos experimentales. En este parámetro la comparación de los promedios por exposición/periodo no presentó diferencias significativas

( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.1).

A los 60 días de edad las crías EHS 15-21 tuvieron el mayor peso corporal, pero solo difirió con el grupo 1-21 ( $p < 0.05$ ). En EP no hubo significancia con los diversos grupos experimentales y testigo, al igual que en la comparación por exposición/periodo (Cuadro No.1).

Longitud craneo-caudal (tamaño) : A los 20 días de edad los grupos EHS no mostraron diferencia significativa en relación al grupo testigo, en EP solo los grupos 8-21 y 15-21 presentaron diferencia. Al comparar la relación exposición/periodo se encontró que solo el grupo 8-21 mostró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.2).

A los 60 días de edad todos los grupos experimentales tuvieron menores promedios de longitud craneocaudal lo cual fue significativo (excepto el grupo 15-21 EHS) en relación al testigo. La comparación de los promedios por exposición/periodo de los grupos experimentales, no reveló diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.2).

Diámetro cefálico: A los 20 días de edad las crías expuestas a humo secundario de tabaco (EHS) mostraron menor diámetro cefálico que el grupo testigo con diferencias significativas en los grupos 1-21 y 8-21, en cambio durante la exposición pasiva (EP) al humo de tabaco el grupo 8-21 tuvo el mayor diámetro y el 15-21 el menor cuya diferencia fue significativa entre éstos y el resto de los grupos

( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.3). En este parámetro la comparación por exposición/periodo de los grupos 1-21 y 8-21 mostraron significancia ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.3).

A los 60 días de edad el grupo 15-21 obtuvo promedios significativamente diferentes que el resto de los grupos en ambos tipos de exposición. Además la comparación por exposición/ periodo reveló diferencia significativa en esta etapa ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.3).

#### PARAMETROS ENCEFALICOS

Peso cerebral: A los 20 días de edad los grupos experimentales tuvieron mayor peso cerebral, la diferencia fué significativa entre el grupo 15-21 de EHS contra el testigo. En cambio los grupos 1-21 y 8-21 EP mostraron significancia con el grupo testigo y el experimental 15-21. La comparación de promedios por exposición/periodo no presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.4).

A los 60 días de edad los grupos experimentales tuvieron promedios mayores de peso cerebral que el testigo, pero sin significancia en los grupos EHS. En los grupos de EP solo hubo significancia en 8-21 y 15-21 en relación al testigo. En la comparación de promedios por exposición/periodo solo los grupos 15-21 tuvieron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.4).

Longitud antero-posterior: A los 20 días de edad en la longitud antero-posterior de los grupos expuestos a humo secundario no se encontró diferencia estadística, en cambio los grupos de exposición pasiva mostraron significancia con el grupo testigo. En cuanto a la comparación exposición/periodo, solo el grupo 8-21 presento diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.5).

A los 60 días de edad la longitud antero-posterior de los grupos experimentales presentaron diferencias estadísticas en relación al testigo, pero tambien los grupos 8-21 y 15-21 de ambos tipos de exposición tuvieron diferencia estadística en relación a los grupos 1-21. En la relación exposición/periodo se encontro significancia en los grupos 1-21 y 15-21 (Cuadro No.5)

Longitud dorso-ventral (Espesor cerebral): A los 20 días de edad los grupos expuestos mostrarón los menores valores de longitud dorso-ventral que el grupo testigo, y la diferencia encontrada fue significativa. Los grupos 15-21 de ambas exposiciones resultaron los más afectados ( $p < 0.05$ ). La comparación entre los grupos por exposición/periodo presentó diferencias significativas en los grupos 8-21 y 15-21 ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.6).

A los 60 días de edad, la longitud dorso-ventral de los grupos experimentales EHS fue similar al testigo. El grupo 1-21 EP mostró un promedio significativamente diferente que el testigo. Mientras que la comparación

exposición/periodo no mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.6).

Longitud Transversal (Anchura cerebral): En cuanto a la anchura cerebral a los 20 días de edad, los grupos 1-21 y 15-21 de EHS tuvieron el menor promedio, lo cual difirió con el grupo testigo y 8-21, los grupos EP tuvieron menores promedios que el testigo, y esta diferencia resultó significativa ( $p < 0.05$ ). En la comparación por exposición/periodo, se encontró diferencia en el grupo 8-21 ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.7).

A los 60 días de edad los grupos experimentales de ambos tipos de exposición no mostraron diferencias estadísticas con el grupo testigo ( $p < 0.05$ ). Así mismo no se encontraron diferencias significativas durante la comparación exposición/periodo (Cuadro No.7).

## ESTUDIO DESCRIPTIVO

### Arreglo Celular (Distribución Celular)

A los 20 días de edad la corteza cerebral de las crías testigo presentaron un arreglo celular uniforme, los estratos molecular, granular externo, piramidal, ganglionar y de células fusiformes fueron fácilmente identificados, a excepción de las células del estrato granular interno, el cual presentó una considerable inmadurez celular (Fig.1 y 4). Por otra parte, en los cortes de crías EHS la estratificación fue menos evidente, por ejemplo en los

grupos 1-21 y 8-21 solo fue identificado el estrato ganglionar, distinguible por sus grandes células (de Betz) en forma de gota (Fig.6 y 7). En el grupo 15-21 predominaron células multiformes y en forma de gota, el estrato de células ganglionares fue semejante al grupo testigo.

Por su parte, los cortes de crías EP al humo de tabaco mostraron, también cierto grado de indiferenciación de los estratos piramidal y granular interno particularmente los grupos 1-21 y 8-21, además, en el primero de los grupos, se observo menor densidad celular acompañada de espacios vacios en los estratos superiores (Fig.2 y 5) y en cuanto al grupo 15-21 predominaron células multiformes y de gota, en todo el espesor cortical acompañadas de células gliales (Fig.3).

A los 60 días de edad los cortes testigos mantuvieron el nivel de diferenciación observado a los 20 días de edad, sin embargo persistió el arreglo anormal (indiferenciación) del estrato granular interno y los limites imprecisos entre las capas ganglionar y fusiforme (Fig.8). En cuanto a los grupos EHS el grupo 1-21 mostró incipiente estratificación, con predominio de células polimorfas acompañadas de células gliales y solo fueron identificadas células del estrato ganglionar (células de Betz) (Fig.9). La disposición celular en los grupos 8-21 y 15-21 fue semejante al anterior grupo, pero además se apreció un conglomerado celular en los estratos superior e inferior, además de un espesor irregular



y un número considerable de neuronas en forma de gota. Los grupos EP no mostraron diferencias importantes en los grupos anteriores.

#### Morfología celular

Los cortes histológicos provenientes de las crías testigo de 20 días de edad, presentaron aisladamente pequeñas células alargadas y semicirculares en la capa molecular, mas internamente se observó algunas neuronas en forma de gota y granulaciones citoplásmicas (células granulares), ademas pequeñas células piramidales entremezcladas con células gliales y células granulares de mayor tamaño. Tambien fueron evidentes grandes células ganglionares en forma de gota y otras de aspecto irregular (células fusiformes) (Fig.4).

Por otra parte, los grupos EHS de esta misma edad se diferenciaron del grupo testigo en el mayor espaciamiento entre las células de los estratos intermedios y de morfología indiferenciada en todos los estratos (Fig.6 y 7). En cuanto a los grupos EP, el grupo 8-21 presentó algunas células, estrelladas, aunque predominaron células de forma circular con granulaciones citoplásmicas (Fig.5) y el grupo 15-21 con indiferenciación celular a través de todo el espesor cortical a excepción del estrato ganglionar y una menor densidad neuronal (Fig.3).

A los 60 días de edad el grupo testigo mantuvo las células alargadas y semicirculares del estrato molecular, más internamente algunas células en forma de gota,

piramidales y de forma irregular. Se apreciaron células de Betz en el estrato ganglionar y células multiformes acompañadas de células gliales (Fig.8).

En forma diferente el grupo 1-21 de EHS mostró células polimorfas con granulaciones citoplásmicas en todos sus estratos (Fig.9) y en la región media del grupo 8-21 junto con células piramidales, algunas células estrelladas y células polimorfas, este mismo arreglo celular fue observado en el grupo 15-21 (Fig.11).

Los grupos EP fueron semejantes al grupo testigo, con persistencia de células en forma de gota, células piramidales y algunas células polimorfas, en la parte media destacaron las células de Betz y células polimorfas en el estrato profundo.

#### ESTUDIO SEMICUANTITATIVO DE LA POBLACION NEURONAL Y GLIAL

A los 20 días de edad, en ambos tipos de exposición los grupos 1-21 y 8-21 fueron los más afectados al tener promedios significativamente menores que el testigo. La comparación por exposición/periodo reveló diferencias entre la población neuronal de los grupos 8-21 ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.8).

A los 60 días de edad las crias de los grupos 1-21 y 15-21 EHS tuvieron mayor número de neuronas que los demás grupos lo cual fue significativo, el grupo 1-21 EP promedió menor población neuronal que el resto de los grupos con

diferencia significativa. La comparación de promedios por exposición/periodo demostró que los grupos 1-21 y 15-21 tuvieron significancia ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.8).

Se demostró estadísticamente que la población glial de los grupos expuestos a los 20 días de edad, fue mayor a la del grupo testigo pero solo hubo significancia en los grupos EP. La comparación de promedios por exposición/periodo demostró que los grupos 1-21 y 15-21 presentaron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). (Cuadro No.9).

Por otra parte, la población glial resultó aumentada a los 60 días de edad en los tres grupos de ambos tipos de exposición, aunque solo las diferencias de los grupos 15-21 EHS y 8-21 EP fueron significativas con el grupo testigo.

La comparación de los promedios de células gliales por exposición/periodo de las crías no mostró significancia ( $p < 0.05$ ) (Cuadro No.9).

CUADRO 1

Peso corporal de las crías de ratas  
expuestas a la inhalación de humo de tabaco

Grupo	20 días			60 días			
	$\bar{X}$	D. E.	C. V.	$\bar{X}$	D.E	C.V	
	(g)	(g)	(%)	(g)	(g)	(%)	
EHS	Testigo	133.14 *	7.13	21.52	1160.65 ##	37.78	23.51
	1-21	131.36 *#	6.74	21.49	1142.55 *	30.26	21.23
	8-21	128.60 #	6.24	21.84	1145.96 ##	24.07	16.49
	15-21	133.79 *	9.85	29.16	1190.39 #	76.76	40.31
EP	Testigo	133.14 ##	7.13	21.52	1160.65	37.78	23.51
	1-21	136.37 *	10.48	28.81	1147.10	41.25	28.04
	8-21	128.88 #	5.91	20.49	1135.17	39.31	29.08
	15-21	129.37 #	5.39	18.36	1142.28	38.73	27.22
Exposición	1-21 EP	136.37	10.48	28.81	1147.10	41.25	28.08
	1-21 EHS	131.36	6.74	21.49	1142.55	30.26	21.23
Período	8-21 EP	128.88	5.91	20.49	1135.17	39.31	29.08
	8-21 EHS	128.60	6.24	21.84	1145.96	24.07	16.49
	15-21 EP	129.37	5.39	18.36	1142.28	38.73	27.22
	15-21 EHS	133.79	9.85	29.16	1190.39	76.76	40.31

EHS= exposición a humo secundario

EP= exposición a humo pasivo

$\bar{X}$ = media aritmética

D.E= desviación estándar

C.V= coeficiente de variación

Exposición/Período= comparación de promedios de los grupos  
de periodos iguales pero de diferente exposición

\*, #, \$ indican diferencia significativa a  $p < 0.05$

CUADRO 2

Longitud craneo-caudal de la progenie de ratas  
expuestas a la inhalación de humo secundario y pasivo

		20 días			60 días		
Grupo	$\bar{X}$	D. E.	C. V.	$\bar{X}$	D.E	C.V	
	(cm)	(cm)	(%)	(cm)	(cm)	(%)	
EHS	Testigo	15.46	1.52	9.84	34.30 *	1.83	5.34
	1-21	15.59	1.33	8.56	30.88 #	1.84	5.96
	8-21	15.47	1.60	10.38	30.68 #	1.57	5.13
	15-21	15.30	1.13	7.39	32.71 **	4.31	13.19
EP	Testigo	15.46 *	1.52	9.84	34.30 *	1.83	5.34
	1-21	16.20 ***	2.97	18.35	31.49 #	2.86	9.09
	8-21	14.15 #	0.57	4.06	29.48 #	2.51	8.53
	15-21	15.60 \$	0.80	5.16	30.93 #	2.04	6.61
Exposición:	1-21 EP	16.20	2.97	18.35	31.49	2.86	9.09
/	1-21 EHS	15.59	1.33	8.56	30.88	1.84	5.96
Periodo	8-21 EP	14.15	0.57	4.06	29.48	2.51	8.53
	8-21 EHS	15.47 *	1.60	10.38	30.68	1.57	5.13
	15-21 EP	15.60	0.80	5.16	30.93	2.04	6.61
	15-21 EHS	15.30	1.13	7.39	32.71	4.31	13.19

EHS= exposición a humo secundario

EP= exposición a humo pasivo

$\bar{X}$ = media aritmética

D.E= desviación estándar

C.V= coeficiente de variación

Exposición/Periodo= comparación de promedios de los grupos  
de periodos iguales pero de diferente exposición

\*, #, \$ indican diferencia significativa a  $p < 0.05$

CUADRO 3

Diámetro cefálico de ratas expuestas  
a la inhalación de humo secundario y pasivo

Grupo	20 días			60 días			
	$\bar{X}$ (g)	D. E. (g)	C. V. (%)	$\bar{X}$ (g)	D.E (g)	C.V (%)	
EHS	Testigo	15.47 *	0.61	3.98	19.76 *	1.58	8.00
	1-21	13.52 #	2.67	19.74	19.07 *	1.30	6.83
	8-21	14.51 #	1.62	11.16	19.98 *	1.97	9.87
	15-21	14.56 ##	2.27	15.62	22.00 #	1.43	6.51
EP	Testigo	15.47 *	0.61	3.98	19.76 *	1.58	8.00
	1-21	15.01 *	1.29	8.60	19.47 ##	1.24	6.36
	8-21	16.20 #	0.45	2.83	20.56 *	1.72	8.38
	15-21	13.85 \$	0.56	4.07	18.30 #	1.31	7.17
Exposición /	1-21 EP	15.01	1.29	8.60	19.47	1.24	6.36
	1-21 EHS	13.52 *	2.67	19.74	19.07	1.30	6.83
Periodo	8-21 EP	16.20	0.45	2.83	20.56	1.72	8.38
	8-21 EHS	14.51 *	1.62	11.16	19.98	1.97	9.87
	15-21 EP	13.85	0.56	4.07	18.30	1.72	8.38
	15-21 EHS	14.56	2.27	15.62	22.00 *	1.43	7.17

EHS= exposición a humo secundario

EP= exposición a humo pasivo

$\bar{X}$ = media aritmética

D.E= desviación estandar

C.V= coeficiente de variación

Exposición/Periodo= comparación de promedios de los grupos  
de periodos iguales pero de diferente exposición

\*, #, \$ indican diferencia significativa a  $p < 0.05$

CUADRO 4

Peso cerebral de las crías expuestas  
a la inhalación secundaria y pasiva

Grupo	20 días			60 días			
	$\bar{X}$	D. E.	C. V.	$\bar{X}$	D.E	C.V	
EHS	Testigo	0.80 *	0.06	8.40	0.99	0.18	18.31
	1-21	0.93 **	0.10	11.29	1.05	0.14	13.96
	8-21	0.94 **	0.16	17.92	1.00	0.13	13.50
	15-21	1.00 #	0.23	23.08	1.09	0.11	10.64
EP	Testigo	0.80 *	0.06	8.40	0.99 **	0.18	18.31
	1-21	0.97 #	0.11	12.24	1.11 **	0.09	8.39
	8-21	0.94 #	0.05	5.80	1.01 *	0.14	14.11
	15-21	0.83 *	0.07	9.47	1.18 #	5.24	4.41
Exposición:	1-21 EP	0.97	0.11	12.24	1.11	0.09	8.39
	1-21 EHS	0.93	0.10	11.29	1.05	0.14	13.96
Periodo	8-21 EP	0.94	0.05	5.80	1.01	0.14	14.11
	8-21 EHS	0.94	0.16	17.92	1.00	0.13	13.50
	15-21 EP	0.83	0.07	9.47	1.18	0.05	4.41
	15-21 EHS	1.00	0.23	23.08	1.09 *	0.11	10.64

EHS= exposición a humo secundario

EP= exposición a humo pasivo

$\bar{X}$ = media aritmética

D.E= desviación estándar

C.V= coeficiente de variación

Exposición/Periodo= comparación de promedios de los grupos  
de periodos iguales pero de diferente exposición

\*, #, % indican diferencia significativa a  $p < 0.05$

CUADRO 5

Longitud antero-posterior de las crías de ratas  
expuestas a la inhalación de humo secundario y pasivo

Grupo	20 días			60 días				
	$\bar{X}$ (mm)	D. E. (mm)	C. V. (%)	$\bar{X}$ (mm)	D.E (mm)	C.V (%)		
EHS	Testigo	20.76	0.55	2.64	23.99 *	1.52	6.34	
	1-21	18.91	2.72	14.39	21.81 #	0.86	3.94	
	8-21	20.91	0.69	3.41	19.53 ##	2.82	14.47	
	15-21	18.81	1.87	9.94	19.44 ##	1.83	9.41	
EP	Testigo	20.76 *	0.55	2.64	23.99 *	1.52	6.34	
	1-21	19.77 #	1.14	5.78	22.62 #	0.79	3.52	
	8-21	19.06 #	2.36	12.39	20.60 ##	2.35	11.41	
	15-21	18.84 #	2.48	13.19	21.33 ##	0.50	2.37	
Exposición:	1-21 EP	19.77	1.14	5.78	22.62	0.79	3.52	
	1-21 EHS	18.91	2.72	14.39	21.81 *	0.86	3.94	
/	Periodo	8-21 EP	19.06	2.36	12.39	20.60	2.35	11.41
		8-21 EHS	20.91 *	0.69	3.41	19.53	2.82	14.47
	15-21 EP	18.84	2.48	14.22	21.33	0.50	2.37	
	15-21 EHS	18.81	1.87	9.94	19.44 *	1.83	9.41	

EHS= exposición a humo secundario

EP= exposición a humo pasivo

$\bar{X}$ = media aritmética

D.E= desviación estándar

C.V= coeficiente de variación

Exposición/Periodo= comparación de promedios de los grupos

de periodos iguales pero de diferente exposición

\*, #, % indican diferencia significativa a  $p < 0.05$



CUADRO 6

Longitud dorso-ventral de las crías  
experimentales y testigo

Grupo	20 días			60 días			
	$\bar{X}$ (mm)	D. E. (mm)	C. V. (%)	$\bar{X}$ (mm)	D.E (mm)	C.V (%)	
EHS	Testigo	9.26 *	0.46	5.00	8.42	0.54	6.44
	1-21	8.70 #	0.37	4.31	8.83	1.52	17.27
	8-21	8.63 #	0.17	2.07	8.18	0.58	7.12
	15-21	7.25 \$	0.07	1.01	8.22	0.71	8.65
EP	Testigo	9.26 *	0.46	5.00	8.42 *	0.54	6.44
	1-21	8.43 #	0.52	6.16	9.97 #	1.57	15.75
	8-21	8.17 ##	0.64	7.90	7.84 *	0.75	9.59
	15-21	7.88 \$	0.34	4.35	8.74 *#	1.97	22.57
Exposición	1-21 EP	8.43	0.52	6.16	9.97	1.57	15.75
	1-21 EHS	8.70	0.37	4.31	8.83	1.52	17.27
Período	8-21 EP	8.17	0.64	7.90	7.84	0.75	9.59
	8-21 EHS	8.63 *	0.17	2.07	8.18	0.58	7.12
	15-21 EP	7.88	0.34	4.35	8.74	1.97	22.57
	15-21 EHS	7.25 *	0.07	1.01	8.22	0.71	8.65

EHS= exposición a humo secundario

EP= exposición a humo secundario

$\bar{X}$ = media aritmética

D.E= desviación estándar

C.V= coeficiente de variación

Exposición/Período= comparación de promedios de los grupos  
de periodos iguales pero de diferente exposición

\*, #, \$ indican diferencia significativa a  $p < 0.05$

CUADRO 7

Longitud transversal cerebral a los 20 y 60 días  
de las crías experimentales

	20 días			60 días			
	Grupo	$\bar{X}$	D. E.	C. V.	$\bar{X}$	D. E.	C. V.
EHS	Testigo	14.24 *	0.58	4.12	14.05	0.95	6.76
	1-21	13.58 #	0.39	2.93	13.52	0.82	6.10
	8-21	14.35 *	0.33	2.32	13.72	0.73	5.38
	15-21	13.28 #	0.81	6.10	13.72	0.51	3.71
EP	Testigo	14.24 *	0.58	4.12	14.05	0.95	6.76
	1-21	13.55 #	0.59	4.36	13.80	0.47	3.41
	8-21	13.59 #	0.78	5.77	13.52	0.81	6.01
	15-21	13.10 #	0.72	5.55	13.61	0.51	3.74
Exposición	1-21 EP	13.55	0.59	4.36	13.80	0.47	3.41
	1-21 EHS	13.58	0.39	2.93	13.52	0.82	6.10
Período	8-21 EP	13.59	0.78	5.77	13.52	0.81	6.01
	8-21 EHS	14.35 *	0.33	2.32	13.72	0.73	5.38
	15-21 EP	13.10	0.72	5.55	13.61	0.51	3.74
	15-21 EHS	13.28	0.81	6.10	13.72	0.51	3.71

EHS= exposición a humo secundario

EP= exposición a humo pasivo

$\bar{X}$ = media aritmética

D.E= desviación estándar

C.V= coeficiente de variación

Exposición/Período= comparación de promedios de los grupos  
de periodos iguales pero de diferente exposición

\*, #, \$ indican diferencia significativa a  $p < 0.05$

Figura 1. Corte cerebral de una cría testigo a los 20 días posnatales, donde se muestra el arreglo histológico normal de algunos estratos celulares. Molecular (Mo), granular exterior (Ge), celular piramidal (Cp), granular interno (Gi). Células piramidales (▲). Células estrelladas (☆).

Tinción HE. 158x.

Figura 2. Animales expuestos toda la gestación a humo pasivo a los 20 días posnatales. Se observa cierto grado de indiferenciación de los estratos piramidal (Cp) y granular interno (Gi), predominan las células multiformes (◄) y se aprecia menor densidad poblacional (Dp).

Tinción HE. 499x.

Figura 3. Crias expuestas el último tercio de la gestación a humo pasivo a los 20 días posnatales. Se aprecia indiferenciación (◄) y arreglo anormal celular (Aa) a través de todo el espesor cortical, donde predominan células multiformes (◄), acompañada de células gliales (□) y menor densidad neuronal (Dp) en los estratos celular piramidal (Cp) y granular interno (Gi).

Tinción HE. 499x.

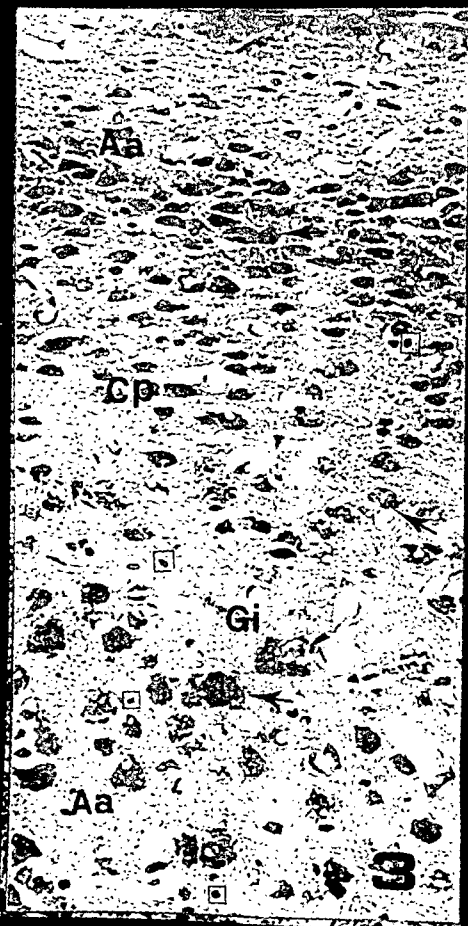
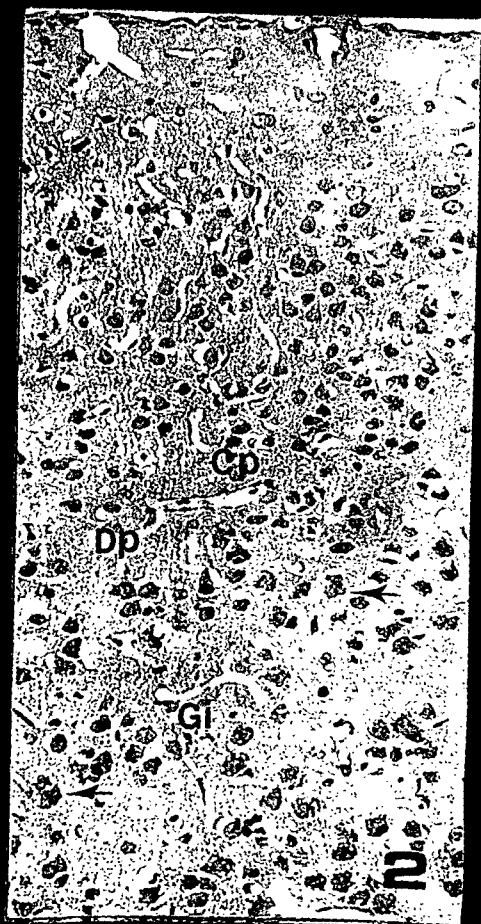
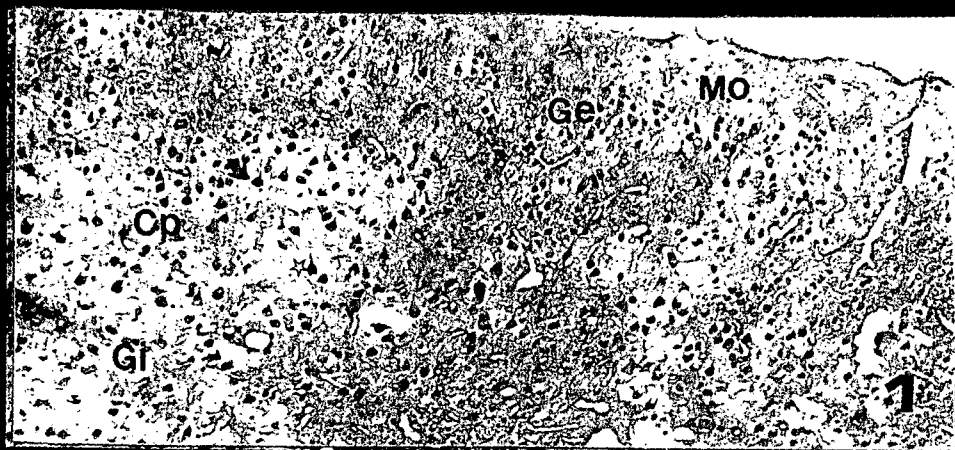


Figura 4. Fotomicrografía de una cria testigo a los 20 días posnatales, donde muestra una alineación celular y morfología bien definida en los primeros cuatro estratos. Células piramidales (▼), células estrelladas (☆), células gliales (□).

Tinción HE. 520x.

Figura 5. Animales de 20 días expuestos las dos terceras partes de la gestación a humo pasivo. Se observa inmadurez celular en los estratos (◄), así como células gliales (□).

Tinción HE. 530x.

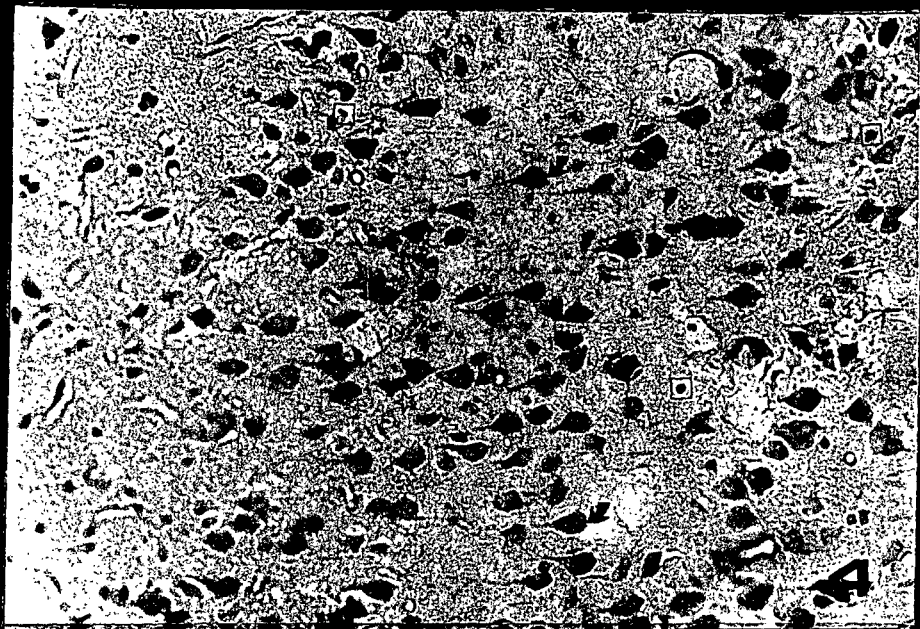


Figura 6. Corte cerebral de una cría de 20 días posnatales expuesta toda la gestación a humo secundario. Se aprecia un arreglo y forma poco característica (Aa) de las células de los estratos intermedios; celular piramidal (Cp) y granular interno (Gi) y un mayor espaciamiento entre las células de los estratos (←).

Tinción HE. 80x.

Figura 7. Crias expuestas las dos terceras partes de la gestación a humo secundario a los 20 días posnatales. Se aprecia alineación celular incipiente (←←) y de morfología indiferenciada (←) en todos los estratos.

Células gliales (□).

Tinción HE. 325x.

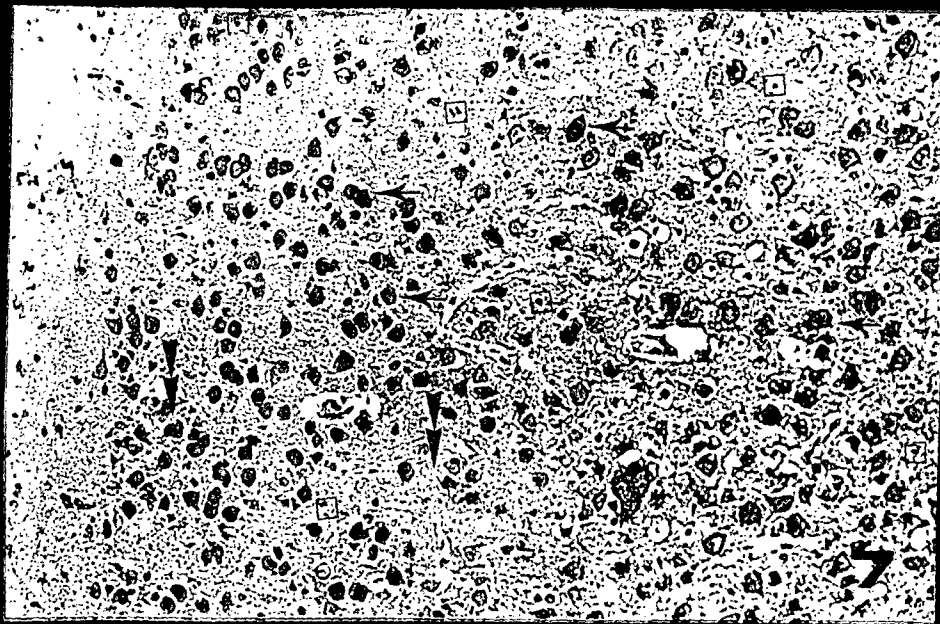
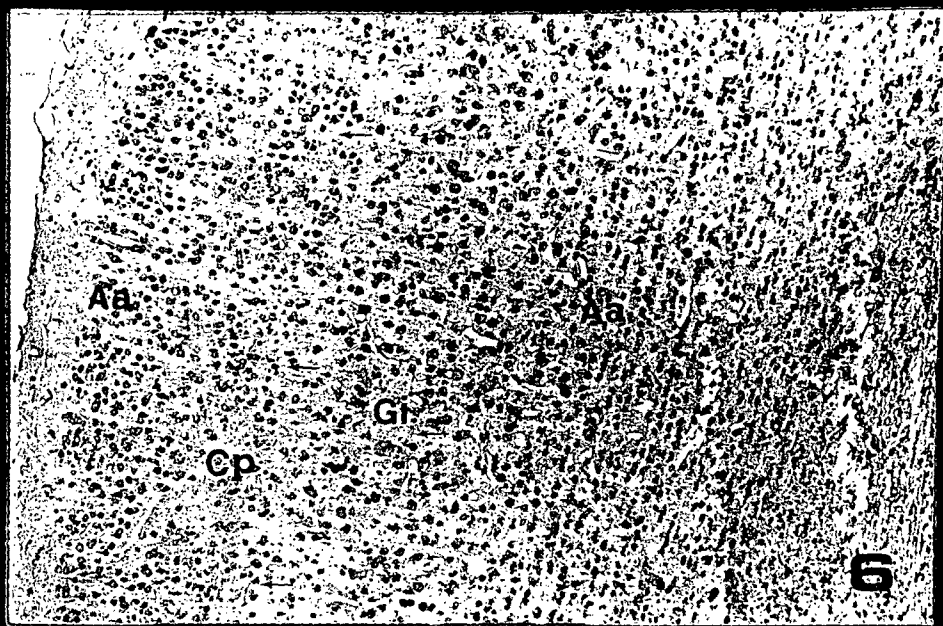




Figura 8. Fotomicrografía panorámica de una cría testigo a los 60 días posnatales. Presenta un arreglo celular normal, excepto en el estrato granular interno (Gi). Se observan células piramidales (▲) y células multiformes (◀), células gliales (□).

Tinción HE. 325.

Figura 9. Animales expuestos toda la gestación a humo secundario, a los 60 días posnatales, donde se puede apreciar indiferenciación celular, células polimorfos con granulaciones citoplásmicas en todos sus estratos (◀), células gliales (□).

Tinción HE. 260x.

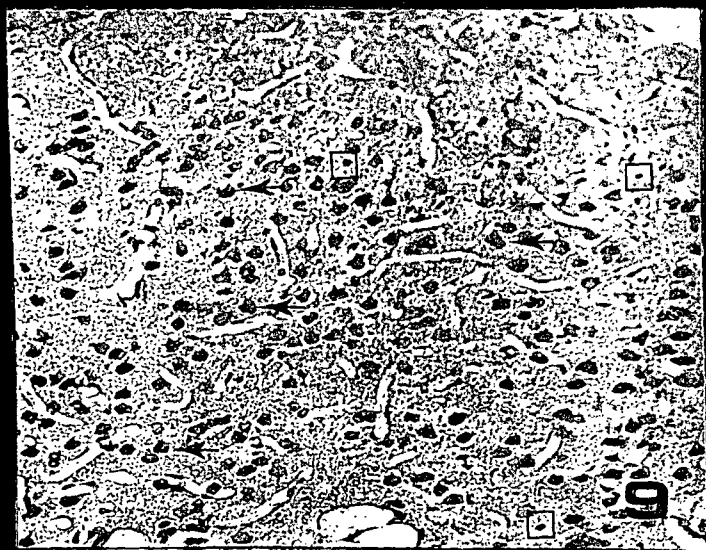
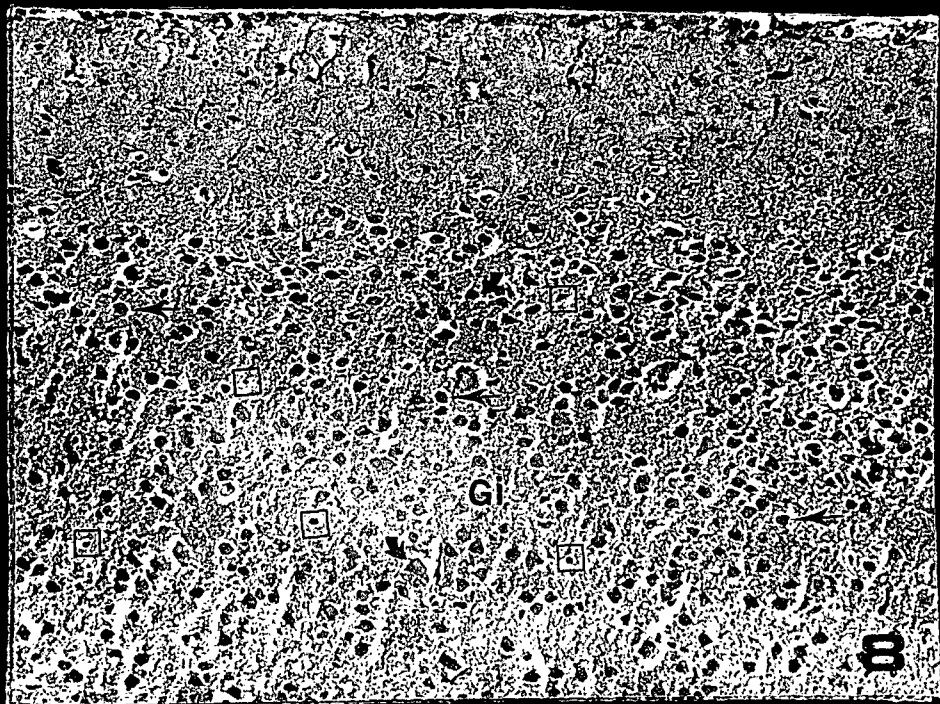
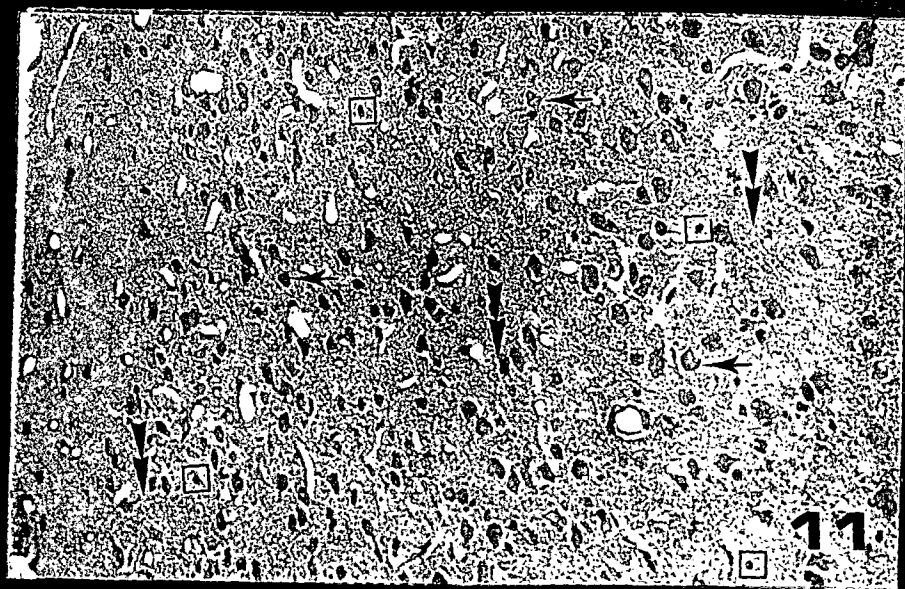


Figura 10. Corte histológico a los 60 días de edad proveniente de las crías expuestas a humo secundario las dos terceras partes de la gestación. Se observa un conglomerado celular (Cc) en los estratos superior; granular exterior (Ge) e inferior; ganglionar (Ga) y fusiforme (Fu), además de un espesor irregular en los estratos intermedios; celular piramidal (Cp) y granular interno (Gi). Células gliales (□).

Tinción HE. 148x.

Figura 11. Amplificación del corte cerebral de una cría expuesta el último tercio de la gestación a los 60 días posnatales, donde se puede apreciar la desalineación celular en sus estratos, así como migración celular (◄◄) células polimorfas (◄) y células gliales (□) con apariencia normal.

Tinción HE. 260x.



CUADRO 8

Estudio semicuantitativo del número neuronal/ $2\text{mm}^2$   
 en zonas definidas de la corteza cerebral temporal  
 en crías de ratas expuestas a la inhalación de humo  
 secundario y pasivo.

Grupo	20 días			60 días			
	$\bar{X}$	D. E.	C. V.	$\bar{X}$	D.E.	C.V	
EHS	Testigo	1149.27 *	31.20	20.90	1107.72 *	20.87	19.37
	1-21	1123.08 **	27.00	21.93	1141.25 #	49.68	35.17
	8-21	1122.67 #	15.01	12.24	1199.66 *	23.94	24.02
	15-21	1138.28 **	26.78	19.36	1126.80 #	29.10	22.95
EP	Testigo	1149.27 *	31.20	20.90	1107.72 *	20.87	19.37
	1-21	1105.42 #	38.53	36.54	1187.83 #	24.41	27.79
	8-21	1104.33 #	34.01	32.60	11106.67 *	26.12	24.49
	15-21	1152.33 *	34.30	22.51	11105.00 *	18.96	18.06
Exposición:	1-21 EP	1105.42	38.53	36.54	1187.83	24.41	27.79
/	1-21 EHS	1123.33	27.00	21.93	1141.25 *	49.68	35.17
Periodo	8-21 EP	1104.33	34.01	32.60	11106.67	26.12	24.49
	8-21 EHS	1122.67 *	15.01	12.24	1199.66	23.94	24.02
	15-21 EP	1152.33	34.30	22.51	11105.00	18.96	18.06
	15-21 EH	1138.28	26.78	19.36	1126.80 *	29.10	22.95

EHS= exposición a humo secundario

EP= exposición a humo pasivo

$\bar{X}$ = media aritmética

D.E= desviación estándar

C.V= coeficiente de variación

Exposición/Periodo= comparación de promedios de los grupos  
 de periodos iguales pero de diferente exposición

\*, #, \$ indican diferencia significativa a  $p < 0.05$

CUADRO 9 Distribución de la población glial/ $\tau$  en la corteza cerebral temporal en la exposición a humo secundario y pasivo.

Grupo	20 días			60 días			
	$\bar{X}$	D. E.	C. V.	$\bar{X}$	D.E	C.V	
EHS	Testigo	54.40	22.80	41.92	42.78 *	18.35	42.89
	1-21	56.33	22.37	39.72	46.67 **	22.57	48.35
	8-21	66.83	15.27	23.20	49.93 **	11.59	23.22
	15-21	55.39	27.84	50.27	54.33 #	14.77	27.18
EP	Testigo	54.40 *	22.80	41.92	42.78 *	18.35	42.89
	1-21	84.00 #	38.02	45.27	46.22 *	12.39	26.81
	8-21	75.33 #	34.25	45.47	57.67 #	15.96	27.67
	15-21	80.72 #	27.45	34.01	52.17 **	10.62	20.37
Exposición:	1-21 EP	84.00	38.02	45.27	46.22	12.39	26.81
	1-21 EHS	56.33 *	22.37	39.72	46.67	22.57	48.35
/ Período	8-21 EP	75.33	34.25	45.47	57.67	15.96	27.67
	8-21 EHS	66.83	15.27	23.20	49.93	11.59	23.22
	15-21 EP	80.72	27.45	34.01	52.17	10.62	20.37
	15-21 EHS	55.39 *	27.84	50.27	54.33	14.77	27.18

EHS= exposición a humo secundario

EP= exposición a humo pasivo

$\bar{X}$ = media aritmética

D.E= desviación estándar

C.V= coeficiente de variación

Exposición/Período= comparación de promedios de los grupos de periodos iguales pero de diferente exposición

\*, #, \$ indican diferencia significativa a  $p < 0.05$

## DISCUSION

El modelo experimental utilizado en el presente estudio es semejante a las condiciones en que las mujeres gestantes consumen, diariamente, menos de 6 cigarros, situación que no llega a provocar una intoxicación aguda (EHS) y semejante al del humo que inhala la persona que esta cerca de ella (EP)<sup>3</sup>.

En trabajos anteriores no se alteró el número de crías al nacimiento, ni aumentó significativamente la mortalidad por el efecto del humo de tabaco en la exposición pasiva (EP). En cambio la exposición a humo secundario (EHS) afecto más a los productos, ya que el bióxido de carbono que se libera durante el consumo de tabaco interfiere con el transporte de oxígeno al feto, lo que afecta el crecimiento y puede causar muerte intraúterina y neonata<sup>11,37,38</sup>.

Por otra parte al analizar estadísticamente los parámetros somatométricos se encontró que los grupos más afectados a los 20 días de edad fueron: en EHS el grupo 15-21 de diámetro cefálico y longitud craneo caudal, en EP los grupos 8-21 y 15-21 en longitud craneo caudal y peso corporal, esto sugiere que se presentan más alteraciones a partir del segundo y último tercio de la gestación en ambos grupos experimentales, en estas etapas se encontraron alteraciones en dichos parámetros, sin embargo es necesario obtener más evidencias para concluir sobre los efectos adversos del humo de tabaco sobre el desarrollo corporal<sup>27,39</sup>.

A los 60 días de edad el grupo expuesto toda la gestación (1-21) en EHS presento los valores más pequeños en cuanto a peso corporal, longitud craneo-caudal y diámetro cefálico, esto se debió probablemente a que hubo más concentración de compuestos toxicos acumulados y que no se eliminaron en los primeros días de vida<sup>27</sup>, sin embargo los grupos más dañados siguen siendo igual que a los 20 días los grupos expuestos dos tercios y el último tercio de la gestación, lo cual pone de manifiesto que los efectos neuroquímicos de este alcaloide son causados por acción directa más que por efectos metabolicos ya que la nicotina es captada del plasma hacia los riñones, higado y mucosa gástrica, a sí como diversos tejidos donde actúa en forma directa principalmente en médula suprarrenal, ganglios autónomos, paredes de vasos sanguíneos y corteza cerebral<sup>26,3</sup>.

En los parámetros encefálicos se evidenciaron anormalidades a los 20 días de edad en los grupos expuestos toda la gestación y el último tercio en EHS en longitud dorso-ventral y longitud transversal, mientras que en EP el grupo más afectado fué el expuesto el último tercio de la gestación en los parámetros antes mencionados. En cuanto a la longitud antero-posterior solo en la EP se encontraron alteraciones.

A los 60 días de edad se observaron más dañados los grupos expuestos el segundo y el último tercio de la gestación en longitud antero-posterior en ambos grupos



experimentales en cambio en longitud transversal resultaron más afectados el grupo expuesto las dos terceras partes de la gestación en los dos tratamientos experimentales.

Lo anteriormente señalado hace evidente que la intoxicación de humo de tabaco asociado con el monóxido de carbono en periodos críticos, como el de gestación, puede conducir no solamente a la disminución del tamaño del cerebro y lesiones de isquemia hipoxica, si no también a un efecto negativo sobre la longitud dorso-ventral y longitud transversal cerebral<sup>27,40</sup>.

La exposición prenatal a la nicotina via infusión materna en ratas daña el desarrollo del sistema nervioso y disminuye la viabilidad y crecimiento, ya que la nicotina penetra en cantidades suficientes al cerebro fetal para causar alteraciones en los sitios de enlace de [3H] nicotínico, anormalidades del desarrollo celular y daños en el desarrollo de proyecciones noradrenérgicas periféricas, en cada caso las alteraciones neurales son virtualmente equivalentes a aquellas obtenidas previamente a la dosificación más alta (6 mg)<sup>39</sup> y la exposición crónica prenatal a la nicotina resultan alteraciones en el estado funcional de estas neuronas. La nicotina administrada via subcutanea produce alteraciones neuroquímicas durante la ontogenia hasta la edad adulta<sup>41</sup>.

Se establece que nuestros resultados apoyan dicha información, ya que se encontraron alteraciones en la organización celular y morfología principalmente en los

estratos intermedios (piramidal y granular interno) de la corteza carebral de los grupos 1-21 y 8-21 de ambos grupos experimentales a los 20 días de edad.

En cambio a los 60 días de edad los grupos experimentales de EHS tuvieron más daño en su estratificación y su morfología celular. Por lo que podemos establecer que el daño celular no es reversible en algunos casos ni se eliminan en la edad posnatal<sup>33</sup>.

En cuanto al estudio semicuantitativo de la población neuronal a los 20 días de edad se observó que los grupos 1-21 y 8-21 de ambos grupos experimentales fueron los más afectados debido probablemente a que estuvieron más tiempo en contacto con el humo de tabaco (21 y 14 días).

A los 60 días de edad los grupos 8-21 de EHS y 1-21 de EP fueron los más afectados en su población neuronal.

La población glial a los 20 días de edad en EHS y EP estuvo aumentada, sin embargo solo resultaron más afectados los grupos de EP, también la población glial a los 60 días estuvo aumentada, pero hubo más daño en el grupo 15-21 de EHS y 8-21 de EP.

Esto nos indica por un lado que mientras la población neuronal esta disminuida en los grupos experimentales la población glial esta aumentada, ya que la presencia de material degenerado sirve como estímulo a las células de la microglia que manifiestan su potencialidad como macrófagos y remueven el deshecho por fagocitosis. Sin embargo la

regeneración es mínima para los axones lesionados en el sistema nervioso central, más aún, la complejidad de estos hace poco probable que, aunque las fibras nerviosas pudieran crecer, establezcan conexiones sinápticas apropiadas con otras neuronas<sup>29,42</sup>.

Posiblemente la corteza cerebral resultó afectada por la hipoxia provocada por la exposición al humo de tabaco, CO<sup>2</sup> y otros constituyentes del mismo y como consecuencia de esto se alteró la actividad de algunas enzimas oxidativas y de la vía glucolítica así como la neurogenesis normal<sup>18,43</sup>.

La información anteriormente señalada evidencia claramente que el sistema nervioso central y específicamente las células de la corteza cerebral sirven como un buen modelo para realizar estudios de los efectos de la inhalación de humo de tabaco sobre la neurogénesis y maduración de estas células. Es por eso que se recomienda complementar con estudios bioquímicos para entender los mecanismos materno-fetales relacionados con la exposición a agentes tóxicos como el humo de tabaco.

## CONCLUSIONES

1.- En el modelo experimental utilizado el humo de tabaco afectó más a los productos de exposición a humo secundario, ya que presentaron mayor muerte neonatal.

2.- El humo de tabaco en ambos grupos experimentales provocó daños más severos en los parámetros somatométricos en las dos terceras partes y el último tercio de la gestación.

3.- La inhalación de humo de tabaco provocó más daño en los grupos expuestos toda la gestación y el último tercio a los 20 días en longitud antero-posterior, dorso-ventral y transversal cerebral, en cambio a los 60 días el grupo expuesto las dos terceras partes de la gestación fué el más dañado en estos tres parámetros.

4.- Las alteraciones en la maduración de la corteza cerebral se evidenciaron en la organización y morfología celular ya que no estuvo definida en los estratos intermedios (celular piramidal y granular interior) de los grupos 1-21 y 8-21 a los 20 días de edad en ambos grupos experimentales.

5.- A los 60 días de edad hubo más alteraciones en los grupos expuestos a la inhalación de humo secundario, ya que no se observó bien definida la estratificación, arreglo

(distribución) y morfología celular.

6.- La población neuronal se observó disminuida en los grupos experimentales debido al daño que ocasionó el humo de tabaco.

7.- La inhalación de humo secundario afectó más a los grupos expuestos toda la gestación y el último tercio (1-21 y 8-21).

8.- Las ratas expuestas a la inhalación pasiva mostraron más daño en los grupos expuestos las dos terceras y el último tercio de la gestación (8-21 y 15-21).

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Stookey G. K., Olson B. L y Drook C. A.(1987) Evaluation of biochemical validation measures in determinacion of smoking status. J Dent Res. 66; 1597-1601.
- 2.- Benowitz N.L. Pharmacokinetic considerations in understanding nicotine dependence. Ciba-Found-Symp;1990. p.p 186-200.
- 3.- Bowman W.C. y Rand M.J.(1984).. Farmacologia. Bases bioquimicas y patológicas. Nueva edit. Interam. S.A de C.V. p.p 42.24-42.25.
- 4.- Baker, H. G (1968) Las plantas y la civilización. Centro regional de ayuda técnica. p.p 163-166.
- 5.- Muramatsu M., Umemura S., Fukui J., Arai T. y Kira S. (1987) Estimation of personal exposure to ambient nicotine in daily environment. Int Arch Occup Environ Healt. 59; 545-550.
- 6.- Drill (1969). Farmacologia; Edit. Fournier, S.A. p. 577.
- 7.- Rusticalli B. y Mocci C. (1982) Smoking and pregnancy; clinical and social considerations. Dif Soc. 61; 116-120.
- 8.- Kuschinsky, G. y Lullmann, H. (1968) Manual de farmacologia. p.p. 310, 326-328.
- 9.- Dreisbach, R.H. (1981) Manual de envenenamientos. Edit. El Manual Moderno S.A p.p 225-226.
- 10.- Deichmann, W.B. y Gerard, H.W. (1969) Toxicology of drugs Academic Press, Inc. p.p. 154-654.
- 11.- McCary J. L. y McCary S. P. Sexualidad Humana de McCary. Cuarta ed. Edit. El Manual Moderno S.A de C.V p.p 76-77
- 12.- K.L. Moore. Embriologia Clinica. Edit. Interamericana. p.p 164-166.

- 13.- R. Balling, H.M.Beier. Direct of effects of nicotine on rabbit preimplantation embryos. *Toxicology*, 34(1985); p.p 309-313.
- 14.- Di Blasi., Ferotti S. N., y Belvedere M. (1983) Interrelation of cigarette smoking and other risk factors in coronary heart diseases. *Cardiologia*. 28; 1037-1051.
- 15.- Dotevall A., Cutti J., y Teger-Nilson A.C. (1987) Platelet reactivity fibrogen and smoking. *Eur J. Haematol*. 38; 55-59.
- 16.- Bell B.A. y Ambrose J. (1982) Smoking and the risk of stroke. *Acta Neurochir*. 64; p.p 1-8.
- 17.-Van Der Veen F. y Fox H. (1982) Effects of cigarette smoking on the human placenta; A light microscopic and electron microscopic study placenta. *Acta Anat*. 131; 243-256.
- 18.- Feccher L. D., Karpa M. y Proctor B. (1987) Disruption of neostriatal development in rats following perinatal exposure to mild but chronic carbon monoxide. *Neurotoxicol Teratol*. 9; 277-282.
- 19.- De la Torre Gonzalez P. (1987). Alteraciones del desarrollo testicular prenatal de ratas por efecto de la exposicion materna a cloroformo y eter. "Estudio histológico". Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Guadalajara.
- 20.- Carr L.A., Walters D.E. y Meyer D.C. (1985) Postnatal development in the rat following prenatal or postnatal exposure to nicotine. *Res Commun Subst Abuse*. 6; 151-164.
- 21.- De la Garza R., Freedman R. y Hoffer J. (1989) Nicotine induced inhibition of cerebellar Purkinje neurons: Specific actions of nicotine and selective blockade by mecamylamine. *Neuropharmacology*. 28; 495-502.

- 22.- De la Garza R., Bickford P.C., Hoffer B.J. y Freedman R. (1987) Heterogeneity of nicotine actions in the rat cerebellum: An in vivo electrophysiologic study. *J Pharmacol Exp Ther.* 24; p.p 689-695.
- 23.- Amankwah K.S., Kaufman N.C. y Webberg A.D. (1985) Ultrastructural changes in neonatal Sciatic Nerve Tissue; effects of passive maternal smoking. *Gynecol Obstet Invest.* 20; p.p 180-193.
- 24.- Ress P.J. (1982). Immediate response to cigarette smoke. *Thorax.* 37; p.p 417-422.
- 25.- Rowell P.P., Carr L.A y Garner C. (1987) Stimulation of tritiated dopamine release by nicotina in rat nucleus acumbeus. *J. Neurochem.* 49; p.p 1449-1454.
- 26.- Haste F.M., Anderson H.R., Brooke O.G., Bland J.M., Peacock J.L. The effects of smoking and drinking on the anthropometric measurements of neonates. *Paediatr-Perinatal- Epidemiol;* 1991. 5(1) p.p 83-92.
- 27.- Harats D., Ben-Naim M., Debach Hollander G., Stein O., Stein Y. Cigarette smoking renders LDL susceptible to peroxidative modification and enhanced metabolism by macrophages. *Atherosclerosis.* 1989. 79(2-3); p.p 245-252.
- 28.- Loscalzo B., Agrusta A, M., Agrusta A. y Crisci L. (1987) Passive Tobacco smoking and stress in pregnancy. *Riv Tossicol Sper Clin.* 15; 119-128.
- 29.- Murray L. Barr. El sistema nervioso humano, "Un punto de vista anatómico". Edit. harla. p.p 198-205.



- 30.- H. Graw, P. Walter (1987). Histología y Anatomía Microscópica comparada de los animales domésticos. Edit.Labor S.A. p.p 153-154.
- 31.- Soriano González Blanca Ines. Algunas Características Morfológicas y Morfométricas de la Corteza Frontal de Ratas y Cobayos Durante la Histogenesis Pre y Postnatal. tesis de Maestría. Facultad de Medicina No 2. Instituto Superior de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba.
- 32.- Beaudion A.R. (1980). Embriology and Teratology. The laboratory rat. Vol.11, p.p 83-84.
- 33.- Roland Leeson C, S. Leeson Thomas. Histología (1981) Edit. Interam. p.p 230-232.
- 34.- Del Angel Meza Rafael, Ruiz Cano Guillermo (1991). Efectos de la restricción proteica sobre el desarrollo del Sistema Nervioso Central de las camadas de ratas desnutridas antes y durante la gestación. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Guadalajara.
- 35.- Feria Velasco A., Karnovsky M.J (1970). Preservación óptima del Sistema Nervioso Central por perfusión con glutaraldehído para estudios ultraestructural. Arch.Invest. Med. (Méx.) 1:201-220.
- 36.- Gene V. Glass, Julian C. Stanley (1970). Statiscal Methods in Education and Psychology, Ed. Prentice-Hall, Inc.
- 37.- Campos Bravo Carlos Alberto (1991). Alteraciones Cerebelares en Productos de Ratas Expuestas Durante la Gestación a la Inhalación de Humo de Tabaco. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Guadalajara.
- 38.- Farias González Aurora Celia (1990). Efectos de la Inhalación Pasiva de Humo de Tabaco Sobre la Progenie de Ratas Expuestas

Durante la Gestación. estudio Somatométrico. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Guadalajara.

39.- Navarro H.A., Seidler F.J., Schwartz R.D., Baker F.E., Dobbins S.S., Slotkin T.A. Prenatal exposure to nicotine impair nervous system development of pharmacology. 1989. 23(3). p.p 187-192.

40.- Woody R.C., Brewster M.A. Telencephalic dysgenesis associated with presumptive maternal carbon monoxide intoxication in the first trimester of pregnancy. Toxicol. 1990. 28(4). p.p 467-475.

41.- Ribary U. Lichtensteiger W. Effects of the acute and chronic prenatal nicotine treatment of central catecholamine systems of male and female rat fetuses and offspring. Pharmacol. 1989. 248(2). p.p 786-792.

42.- Leon Weiss, Roy O. Greep. Histology. Edit. Graw Hill 4a. edición. p.p 317-330.

43.- Dagani F., Marzatico F., Curti O., Zanada F. y Benzi G. Effect of prolonged and intermittent hypoxia on some cerebral enzymatic activities related to energy transduction. J.Cereb.Blood Flow metab. 1984. 4; p.p 615-624.