

# Efectos neurotóxicos en crías de ratas expuestas durante la etapa perinatal a concentraciones de flúor encontradas en acuíferos de la Región Chaco Pampeana



Asociación Toxicológica Argentina

CONICET



INBIOSUR

Bartos, Mariana; Gumilar, Fernanda; Gallegos, Cristina; Baier, Javier; Bras, Cristina; Dominguez, Sergio; Cancela, Liliana; Minetti, Alejandra.

Laboratorio de Toxicología, INBIOSUR, Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS) - CONICET

## INTRODUCCIÓN

El Flúor (F) es un elemento distribuido ampliamente en la naturaleza. La contaminación de los cursos hídricos en nuestro país constituye el principal problema ambiental generado por este elemento. El límite permitido por el Código Alimentario Argentino para el agua de bebida es de hasta 1.5 mg/l. La llanura Chaco-Pampeana, presenta acuíferos con contenido de F que en promedio van de 5 a 10 mg/l. Como el F atraviesa la placenta y está presente en la leche materna, penetraría rápidamente en el cerebro en desarrollo de las crías, produciendo efectos neurotóxicos, aunque no está claro los mecanismos por los cuales produciría dichos efectos. Objetivo: Evaluar en crías de ratas expuestas a F durante el período perinatal la memoria de corta y larga duración, la memoria de reconocimiento, el estado depresivo y los mecanismos de neurotoxicidad que llevan a dichas alteraciones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Animales.** Ratas Wistar del Bioterio de la UNS.

**Materiales.** Fluoruro de sodio en concentraciones de 5 y 10 mg/l.

**Esquema de exposición a F.** Las hembras preñadas recibieron F en al agua de bebida, durante toda la gestación y la lactancia. Los controles recibieron agua de red. Se utilizaron 10 animales por grupo. Se evaluaron las crías macho de 90 días de edad (adultas). El protocolo fue evaluado por el CICUAE institucional (UNS, 2017).

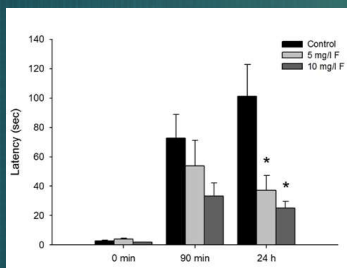
**Evaluación de la memoria de corta (MCD) y larga duración (MLD): Step-down inhibitory avoidance test.** Se mide el tiempo que las ratas demoran en descender de una plataforma. En el entrenamiento reciben un shock eléctrico. En las sesiones de prueba (90 min (MCD) y 24 hs (MLD) después del entrenamiento y sin shocks eléctricos) se registra nuevamente la latencia de descenso.

**Evaluación de la memoria de reconocimiento: Novel Object Recognition test (NORtest).** Esta prueba consiste en presentar a cada rata dos objetos iguales durante la primera sesión, y luego, en una segunda sesión, uno de ellos es reemplazado por un objeto nuevo. El tiempo dedicado a explorar el objeto nuevo respecto del ya conocido, provee un índice de memoria de reconocimiento.

**Evaluación del estado depresivo: Forced swim test.** En este test se coloca al animal dentro de un contenedor con agua, del cual no puede escapar. Ante dicha situación, primero existe un comportamiento activo de intento de fuga (nadando o tratando de escalar), seguido por períodos de inmovilidad en los que permanece flotando inactivo. Esta última conducta es considerada un indicador de desesperanza para enfrentar una situación de estrés y funciona como un modelo conductual de depresión.

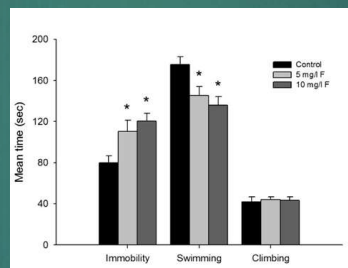
**Obtención de las muestras.** Las crías fueron sacrificadas por decapitación. Luego se realizó la disección de la corteza prefrontal, cuerpo estriado e hipocampo. Las muestras fueron homogenizadas en buffer PBS. En el homogenizado total se evaluó el contenido de tioles totales y en los sobrenadantes la actividad de las enzimas catalasa (CAT) y las involucradas en el metabolismo de glutamato: glutámico-pirúvico (GPT) y glutámico-oxalacético (GOT). Todos mediante métodos espectrofotométricos.

## RESULTADOS



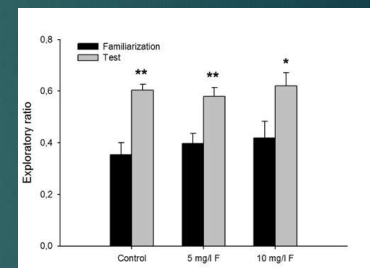
**Step-down inhibitory avoidance test.**

Latencia del entrenamiento (0 min), MCD (90 min) y MLD (24 hs). Datos: media  $\pm$  EE de 9-10 animales por grupo. \* $p < 0.05$ , comparado con el control.



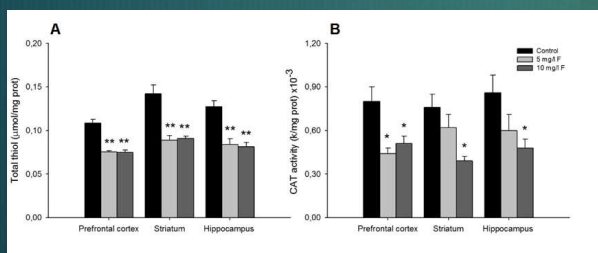
**Forced swim test.**

Duración de la inmovilidad, nado y escalada. Datos: media  $\pm$  EE de 9-10 animales por grupo. \* $p < 0.05$ , comparado con el control.



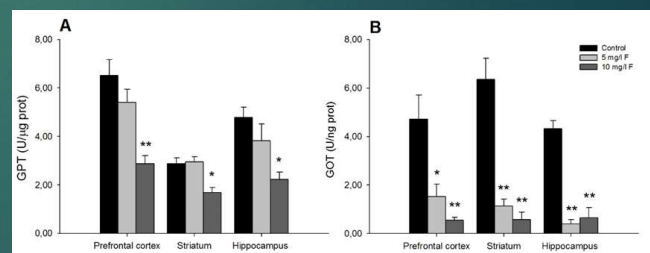
**Novel Object Recognition test.**

Índice de exploración de un nuevo objeto. Datos: media  $\pm$  EE de 9-10 animales por grupo. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ .



**Contenido de tioles totales (A) y actividad de catalasa (B).**

Evaluados en corteza prefrontal, cuerpo estriado e hipocampo. Datos: media  $\pm$  EE de 5 crías por grupo. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ , comparado con el control.



**Actividad de las transaminasas (GPT y GOT).**

Los datos representan la media  $\pm$  EE de 5 crías por grupo. \* $p < 0.05$  y \*\* $p < 0.001$ , comparado con el control.

## CONCLUSIONES

- La exposición a concentraciones de F presentes en los acuíferos de la región Chaco-pampeana durante la gestación y la lactancia produciría una disminución de la memoria de larga duración y un cuadro depresivo en las crías macho en la edad adulta.
- El mecanismo de neurotoxicidad podría estar conectado con un posible aumento del estrés oxidativo y una disminución de la actividad de las transaminasas en todas las áreas neuronales involucradas en los desórdenes cognitivos evaluados.
- La evidencia de los posibles daños sobre el sistema nervioso permitiría alertar a la población en relación al riesgo de exposiciones presentes en distintas zonas de nuestro país, así como aplicar las medidas preventivas necesarias para evitar dicha exposición.