



**UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA  
METROPOLITANA**  
Unidad Xochimilco



**División de Ciencias Biológicas de la Salud**

**Lic. Química Farmacéutica Biológica**

**Servicio social**

**Lidia Sofía Martínez Hernández**

**Proyecto:**

**Alteraciones conductuales y neuroquímicas inducidas por la  
exposición a plomo en ratones adultos carentes de células  
cebadas.**

**Asesores:**

**Mtro. Felipe Mendoza Pérez**

**Dr. Juan Carlos Martínez Lazcano**

**Fecha inicio: 24/5/2022**

**Fecha término: 02/1/2023**

# ÍNDICE

RESUMEN .....	i
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. ANTECEDENTES .....	2
Plomo como contaminante ambiental .....	2
Plomo como inductor de neuroinflamación .....	3
Las células cebadas como parte de la respuesta inmune e inflamatoria .....	3
Plomo y las células cebadas .....	4
Neuroinflamación en procesos conductuales .....	5
Test de evaluaciones conductuales asociadas a estados de ansiedad .....	5
Modelos animales para evaluaciones conductuales .....	5
Evaluación conductual .....	6
III. HIPÓTESIS .....	10
IV. OBJETIVOS.....	11
V. MATERIALES Y MÉTODOS .....	12
Modelos experimentales .....	12
Seguimiento del peso corporal .....	12
Prueba luz-obscuridad .....	13
Prueba conducta motriz .....	13
Prueba enterramiento de canicas .....	14
Prueba de conducta agresiva .....	15
Prueba peroxidación de lípidos.....	16
Absorción atómica .....	16
Análisis de datos .....	17
VI. RESULTADOS .....	18
Peso corporal.....	18
Prueba luz-obscuridad .....	19
Prueba conducta motriz .....	19
Prueba enterramiento de canicas .....	21
Prueba de conducta agresiva .....	22
Prueba peroxidación de lípidos.....	23

Niveles de plomo .....	23
VII. DISCUSIÓN.....	24
VIII. CONCLUSIONES.....	26
IX. REFERENCIAS .....	29

## RESUMEN

El plomo ( $Pb^{2+}$ ), de forma histórica como contemporánea, tiene importantes implicaciones teóricas para el estudio del deterioro cognitivo y conductas antisociales; existe evidencia de que el  $Pb^{2+}$  agrava la hiperactividad, el comportamiento impulsivo y los problemas de salud mental, conductas que son correlacionadas con la predisposición a conductas agresivas relacionadas con la delincuencia. Criminólogos argumentan que existe una conexión entre la capacidad cognitiva y la delincuencia, directamente, se reportó una asociación entre la exposición al  $Pb^{2+}$  y el incremento en crímenes violentos en la ciudad de Nueva York. Uno de los mecanismos propuestos para explicar estas alteraciones, involucra a la respuesta inflamatoria celular y molecular en el sistema nervioso central, por lo que, en el presente proyecto se utilizaron ratones transgénicos carentes de células cebadas machos y hembras adultos de la cepa  $Kit^{Wsh/Wsh}$  (Wsh), los cuales fueron expuestos a 500 ppm de  $Pb^{2+}$  en el agua de bebida durante un periodo de tres meses. Una vez concluido el periodo de exposición, a los ratones de los grupos control y tratados se les realizó una batería de pruebas conductuales que incluyeron conducta motriz, prueba de luz-obscuridad, enterramiento de canicas y conducta agresiva en su test de arena neutral.

## I. INTRODUCCIÓN

El plomo ( $Pb^{2+}$ ) es un metal no esencial para el ser humano que contamina el medio ambiente (OMS, 2022). Esto debido a sus usos como en baterías de almacenamiento y pinturas lo que derivan en problemas de salud pública provocando efectos tóxicos digestivos, hematológicos y neurológicos (Martínez-Lazcano et al., 2018). Sus efectos tóxicos se presentan por su capacidad de imitar al calcio en el cuerpo lo que permite su fácil entrada a la barrera hematoencefálica dañando áreas del cerebro relacionados con la regulación de los estados de ánimo y síntomas asociados a la ansiedad (Winter y Sampson, 2017).

Como se sabe los modelos animales son clave en la investigación porque replican algunas características conductuales, anatómicas y morfológicas de los humanos, lo que favorece una mejor comprensión de los procesos realizados.

En este trabajo el objetivo fue examinar el efecto psico-social de la exposición crónica a plomo en ratones carentes de células cebadas, para esto se utilizaron ratones machos y hembras de la cepa W-sh alojados en un ambiente controlado y alimentados con dieta estándar para su posterior análisis mediante pruebas conductuales como conducta motriz, luz-obscuridad, enterramiento de canicas y conducta agresiva (arena neutral), además de su seguimiento corporal.

Finalmente se obtuvo que el  $Pb^{2+}$  si presenta afectaciones a nivel conductual ocasionando mayor nivel de estrés o miedo a objetos nuevos, mayor comportamiento exploratorio y mayor predisposición a la conducta agresiva.

## II. ANTECEDENTES

### Plomo como contaminante ambiental

El plomo (Pb) es un metal pesado no esencial para el ser humano que se libera de la corteza terrestre y contamina el medio ambiente depositándose en el suelo y agua de la superficie. Su uso generalizado y exposición humana da lugar a graves problemas de salud pública (Salas, C. et al., 2019). En la actualidad sus principales usos son en baterías de almacenamiento (para vehículos de motor y energía solar), en el revestimiento de tanques y tuberías, pintura con Pb, en las industrias de construcción y la química, además de ser uno de los principales componentes de muchas aleaciones utilizadas para soldaduras, aleaciones de metales, los aceros especiales, el latón y los bronce (OMS, 2022). Debido a sus múltiples usos, las vías más importantes de exposición al Pb son la inhalación y la ingesta de grandes cantidades de sales de  $Pb^{2+}$  como el acetato de plomo ( $Pb(C_2H_3O_2)_2$ ) (Figura 1) o tetra óxido de plomo ( $Pb_3O_4$ ) (Figura 2), dando como resultado efectos tóxicos digestivos, hematológicos, neurológicos y renales, así como efectos en el aparato reproductor, el sistema inmunitario, el sistema endocrino y el aparato cardiovascular (OMS, 2022).

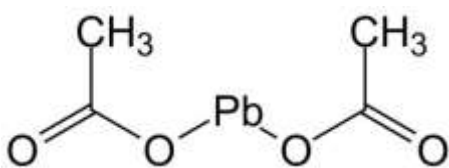


Figura 1. Acetato de plomo

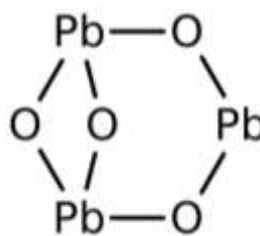


Figura 2. Tetra óxido de plomo

En mujeres embarazadas se informa que el  $Pb^{2+}$  atraviesa la barrera placentaria y se distribuye por igual en la madre y el feto. En niños, se puede afectar la función cardíaca, alterar el desarrollo cognitivo, del lenguaje, comportamiento social y delincuencia juvenil después de la exposición a  $Pb^{2+}$ . Además, el daño cerebral puede resultar en trastornos neurológicos como el retraso mental, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson además de problemas de comportamiento como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad y criminalidad y el

funcionamiento intelectual general como la función visuoespacial, aprendizaje y memoria verbal (Martínez-Lazcano et al., 2018). Muchas de las propiedades tóxicas del  $Pb^{2+}$  surgen de la capacidad de mimetizar el calcio en el cuerpo y así dañar áreas del cerebro asociadas con la regulación de los estados de ánimo, periodos de atención, el comportamiento hiperactivo y síntomas asociados a la ansiedad y depresión (Winter y Sampson, 2017).

### **Plomo como inductor de neuroinflamación**

La inflamación es una respuesta fisiológica protectora frente a lesiones e infecciones, necesaria para eliminar estímulos perjudiciales. En el sistema nervioso central (SNC) se activa en respuesta a una lesión, enfermedad o alteraciones en la barrera hematoencefálica (BHE) y se denomina neuroinflamación (Dong, H. et al., 2014).

El  $Pb^{2+}$  puede atravesar rápidamente la BHE, debido a su capacidad de sustituir a los iones de calcio ( $Ca^{2+}$ ) e interferir con la liberación de neurotransmisores, interrumpiendo la función de los sistemas GABAérgico, dopaminérgico y colinérgico; así como inhibir a los receptores de tipo N-metil-D-aspartato (NMDA; asociados con procesos de aprendizaje y memoria) (Marchetti, C. 2003). Además, la intoxicación por  $Pb^{2+}$  se acompaña de eventos neuroinflamatorios que conducen a la muerte neuronal. La exposición a  $Pb^{2+}$  activa la microglía y la sobreproducción de proteínas proinflamatorias como la sintasa del óxido nítrico isoforma inducible (iNOS), interleucina uno-beta (IL)- $1\beta$  y factor de necrosis tumoral alfa (TNF)- $\alpha$ ; así con la activación de receptores de tipo Toll (TLR) resultando en una mayor síntesis de citocinas proinflamatorias y la producción de especies reactivas de nitrógeno (RNS) y especies reactivas de oxígeno (ROS) (Huat, T. et al., 2019).

### **Las células cebadas como parte de la respuesta inmune e inflamatoria**

Las células cebadas (CC) o mastocitos (MC) son células inmunitarias del cerebro derivadas de las células mieloides, contribuyen al funcionamiento conductual normativo, particularmente la cognición y la emotividad, y residen en el lado

abluminal de los vasos sanguíneos cerebrales, que sirven como sensores y efectores en la comunicación entre neuronas, los astrocitos, la microglía, la matriz extracelular y los vasos sanguíneos. El inicio y la propagación de la neuroinflamación parecen depender en gran medida de la interacción entre la glía, las células inmunitarias y las neuronas, además, existe evidencia de que en los animales carentes de CC la activación de la microglía es menor (Dong, H. et al., 2014).

Las CC activadas tienen un impacto en los procesos de neuroinflamación ya que pueden actuar indirectamente a través de sus interacciones con las células gliales y las neuronas, resultando en la liberación de moléculas como IL-6, IL-1 $\beta$  y óxido nítrico (NO); también directamente a través de la liberación de mediadores como TNF- $\alpha$ , histamina, quinasa (Traina, G. 2021). Durante la neuroinflamación, los mastocitos pueden actuar como catalizadores y amplificar las respuestas celulares y moleculares, lo que influye en la neurogénesis, la neurodegeneración y la permeabilidad de la BHE. *In vivo*, las ratas genéticamente deficientes en mastocitos mostraron una reducción del 60% en la inflamación del cerebro en comparación con los controles de tipo salvaje (Hendriksen, E. et al., 2017). Para el estudio del papel de las CC y sus mediadores inflamatorios *in vivo*, se han generado modelos animales como los ratones Kit<sup>Wsh/Wsh</sup> (W-sash o W-sh) que tienen una mutación en el promotor del gen del receptor c-Kit, lo que ocasiona que los precursores de las CC no maduren de manera correcta; por lo que resultan un modelo adecuado para este estudio (Grimbaldeston, M. et al., 2005).

### **Plomo y las células cebadas**

Dentro de los mecanismos de daño propuestos para explicar el efecto de la exposición a Pb<sup>2+</sup>, se propone y existe evidencia sobre que la exposición a Pb<sup>2+</sup> debilita la BHE incrementando con esto la actividad de citocinas y receptores a glutamato en el SNC (Dyatlov, V. et al., 1998). Con base en que la exposición a Pb<sup>2+</sup> exacerba los síntomas ocasionados por una infección de *Listeria monocytogenes* (bacteria Gram positivo), (Dyatlov y Lawrence, 2002) y que además en 1971 se reportó que el Pb<sup>2+</sup>, disminuía las defensas del huésped



contra *Salmonella typhimurium* (bacteria Gram negativo), en una forma dosis dependiente (Hemphill, F. et al., 1971), se ha hipotetizado que la exposición a  $Pb^{2+}$  podría implicar de forma directa a los mecanismos de respuesta inmunitarios en infecciones bacterianas, de forma particular en el caso de las bacterias Gram negativo, como las CC.

### **Neuroinflamación en procesos conductuales**

La neuroinflamación se relaciona con enfermedades psiquiátricas; se dice, que el llamado “comportamiento de la enfermedad inducida por citocinas” es mediada por citocinas pro inflamatorias como IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$  y se caracteriza por letargo, depresión, falta de concentración, anorexia, trastornos del sueño, reducción en la higiene personal y retraimiento social (Courtet, P. et al., 2015).

Como se menciona anteriormente, la activación de la microglía puede contribuir a una mayor producción de citocinas en el SNC que, a su vez, modula los sistemas serotoninérgicos y noradrenérgicos y puede favorecer alteraciones en las conductas (Courtet, P. et al., 2015). Esto puede deberse a que se reportan mayores niveles de citocinas en áreas cerebrales relacionadas con dimensiones psicológicas que confieren mayor vulnerabilidad al suicidio, como la impulsividad, la agresividad, la desesperanza o la ansiedad. Las citocinas circulantes pueden afectar a la fisiología del cerebro y estimular la microglía a través de vías directas e indirectas (Courtet, P. et al., 2015). En niños y en trabajadores industriales se describe la pérdida de memoria, alteraciones en el comportamiento y aprendizaje que estarían mediadas por sistemas de neurotransmisores y cambios neuroquímicos (Riera, N. et al., 2001).

### **Test de evaluaciones conductuales asociadas a estados de ansiedad**

#### **Modelos animales para evaluaciones conductuales**

Los modelos animales son una herramienta clave dentro de la investigación ya que ayudan a replicar algunas características conductuales, anatómicas, fisiológicas, morfológicas, bioquímicas y moleculares asociadas con alguna

patología, lo que favorece una mejor comprensión de los procesos realizados, así como fijar variables que pudiera impedir la evaluación en seres humanos debido a cuestiones éticas, costos, entre otros.

Una de las grandes ventajas de los modelos animales es que permiten tener un mayor control de variables que pueden afectar la respuesta del sujeto, como factores ambientales, eventos estresantes tanto pre- como postnatales, el tipo de alojamiento, la edad, susceptibilidades propias de la especie o cepa, entre otras (Mora y Salas, 2014).

### **Evaluación conductual**

Las pruebas en roedores se pueden clasificar en condicionadas y no condicionadas. En las primeras se hace un entrenamiento previo y se basan en la capacidad de responder ante un estímulo con la respuesta específica a otro estímulo. Por el contrario, las pruebas no condicionadas buscan medir la respuesta conductual o fisiológica ante estímulos estresantes o nuevos. En estos modelos se evita hacer privación de agua o comida, así como la administración de estresores como choques eléctricos y no se requieren periodos largos de entrenamiento. Dentro de algunas de estas pruebas se incluyen: prueba de luz-obscuridad, enterramiento de canicas, conducta motriz y un test de conducta agresiva (Polanco, L. et al 2011).

Estas pruebas permiten el desarrollo de una serie de paradigmas basados en la observación de una variedad de conductas del roedor y la mayoría de los procedimientos conductuales para el estudio farmacológico de la ansiedad se basan en este tipo de pruebas; además, no requieren de un alto costo económico para su implementación y están al alcance de cualquier laboratorio de investigación. Los experimentos conductuales deben hacerse en el mismo horario (cuando se realizan en días subsecuentes), los implementos (como cajas, laberinto, etc.) se lavan con detergente o etanol después de cada prueba y se realizan en ausencia del experimentador en un cuarto con temperatura e

iluminación reguladas y con amortiguación del sonido, provisto con facilidades para su grabación en video (Placer, D. et al. 2011).

A continuación, se detallan las pruebas luz-obscuridad, enterramiento de canicas, conducta motriz y un test de conducta agresiva.

### **La prueba de luz-obscuridad**

En esta prueba se utiliza una caja con una parte oscurecida y otra iluminada con una abertura en el centro que separa ambas partes (Figura 3). Se coloca inicialmente al animal en el lado brillante y se observa su conducta por 5 minutos; mayor tiempo de permanencia en el lado iluminado se relaciona con conductas tipo ansiosas.



Figura 3. Caja prueba luz-obscuridad.

### **La prueba de enterramiento de canicas**

Se utiliza una caja con el piso cubierto de aserrín limpio y estéril para cada animal, se distribuyen 20 canicas y se coloca al roedor. Después de 15 minutos se contabiliza el número de canicas que el ratón entierra. Mientras más canicas enterradas mayor es el nivel de estrés o miedo que presentan frente a objetos extraños (Figura 4).

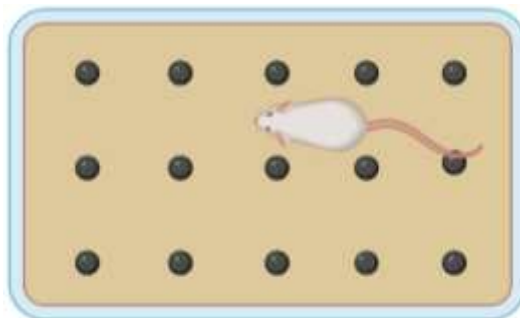


Figura 4. Prueba enterramiento de canicas.

### **La prueba conducta motriz**

Es una prueba usada para analizar el comportamiento exploratorio mediante movimientos verticales y horizontales de roedores en un lugar que impiden su salida. Se usa el equipo Opto-varimex, con un sistema que detecta el movimiento con una rejilla de fotocélulas infrarrojas colocadas alrededor de la arena y proporciona coordenadas que identifican la ubicación del animal (Figura 5). El movimiento vertical se marca y se almacena con los datos de posición horizontal.

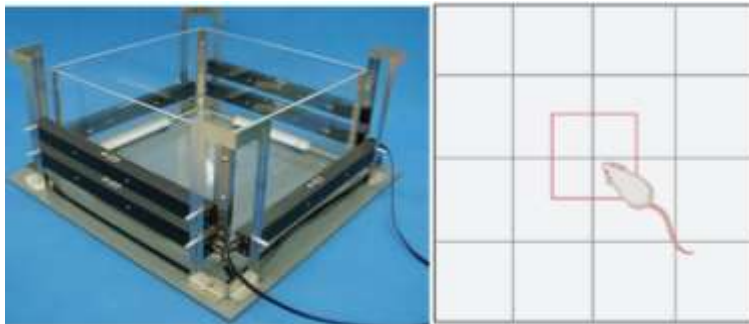


Figura 5. Equipo Opto-varimex.

### **El test de conducta agresiva**

Esta prueba consiste en aislar a los animales experimentales individualmente bajo condiciones ambientales neutras por un tiempo determinado. Al término de periodo de aislamiento, se procede a introducir a dos ratones macho en una caja limpia y estéril denominada “arena neutral” con aserrín limpio. Con los dos animales dentro de la caja se inicia el registro de la conducta la cual debe ser grabada para su posterior análisis. Dentro de las conductas normales se tiene la exploración de ambos roedores al ambiente nuevo y entre ellos (Figura 6a). Se consideran conductas agresivas cuando se enfrentan ambos ratones presentando posturas “de pie” y cuando uno logra someter al otro (Figura 6b, c). Finalmente se da por terminado el ataque cuando el ratón agresor pierde la atención sobre el ratón agredido (Figura 6d).

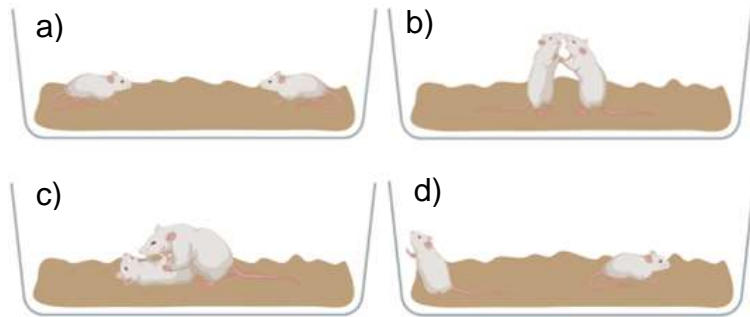


Figura 6. Posturas de roedores para la conducta agresiva en su test de arena neutral.  
a) Reconocimiento del ambiente, b) inicio del combate, c) sometimiento y d) termino del ataque.

### III. HIPÓTESIS

Como se expuso anteriormente, la exposición a  $Pb^{2+}$  disminuye de forma significativa la respuesta inmune ante microorganismos Gram (+), en relación con esto, las CC son parte de las líneas de defensa en infecciones por organismos Gram (+), además de su participación en procesos de neuro inflamación inducidos por la liberación de citocinas las cuales pueden inducir cambios conductuales asociados a ansiedad y agresividad. Por lo que hipotetizamos que la exposición a  $Pb^{2+}$  en ratones adultos carentes de células cebadas inducirá un incremento en conductas asociadas a un deterioro socio-emocional.

## **IV. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

Estudiar el papel de las células cebadas en el desarrollo de las alteraciones conductuales, neuroquímicas y neuro moleculares, presentes en ratones machos y hembras adultas expuestos de forma crónica al  $Pb^{2+}$ .

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Evaluar las manifestaciones conductuales asociadas a la exposición a  $Pb^{2+}$  en ratones carentes de células cebadas.
- Evaluar los niveles de  $Pb^{2+}$  en diferentes regiones cerebrales de ratones adultos carentes de células cebadas expuestos de forma crónica a  $Pb^{2+}$ .

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### **Modelos experimentales**

Como material biológico se utilizaron 20 ratones machos y 20 hembras adultas (por lote) de dos diferentes edades: Lote 1 entre 23-25 semanas y el lote 2 de entre 13-18 semanas de edad de la cepa W-sh. Los grupos de ratones tratados fueron divididos en dos grupos experimentales: a) grupo de machos con tratamiento ( $Pb^{2+}$  500 ppm) y b) grupo de hembras con tratamiento ( $Pb^{2+}$  500 ppm), cada uno con su grupo control (W-sh). Los grupos control recibieron agua y en el caso de los ratones tratados, una solución de acetato de plomo (conteniendo 500 ppm de  $Pb^{2+}$ ) *ad-libitum* durante tres meses y fueron pesados periódicamente. Los ratones se alimentaron con dieta estándar y se alojaron en cajas con aserrín limpio y estéril con condiciones ambientales controladas dentro del Laboratorio de Neurofarmacología Molecular y Nanotecnología en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez.

Al término del tratamiento, a cada ratón de los grupos, se les realizaron las pruebas conductuales de luz-obscuridad, conducta motriz, enterramiento de canicas y conducta agresiva (arena neutral).

Una vez realizadas las pruebas, los ratones se anestesiaron con pentobarbital 40 mg/kg, se sacrificaron por decapitación y se realizó la extracción de la masa encefálica, posteriormente se realizó la disección de regiones cerebrales (corteza motora Cx, estriado St, hipocampo Hp y cerebelo Cb) que fueron utilizadas para determinar los niveles de  $Pb^{2+}$ .

### **Seguimiento del peso corporal**

A partir de la obtención de los ratones, se registró el primero peso y se continuo con la toma del peso a los 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días tanto del grupo control como del grupo con tratamiento  $Pb^{2+}$  500 ppm (machos y hembras), para determinar si la exposición a  $Pb^{2+}$  provoca cambios significativos en el peso (Figura 7).





Figura 7. Pesaje de ratones

### **Prueba luz-obscuridad**

Esta prueba se fundamenta en el conflicto entre el comportamiento exploratorio del ratón y la aversión natural hacia el área abierta e iluminada de esta prueba. Consiste en una caja de 40 x 41 x 20 cm con una zona oscurecida y otra iluminada, la cual se iluminó con una lámpara de 22 W. Se seleccionaron aleatoriamente a los ratones del grupo control y del grupo  $Pb^{2+}$  500 ppm y se colocaron individualmente en el lado iluminado de la caja que fue aseada con etanol para eliminar el rastro de animales colocados con anterioridad. La prueba se realizó durante un periodo de 5 minutos, se observó su conducta y se evaluó: a) el tiempo de latencia, definido como el tiempo en que tarda en realizar el primer cruce hacia el lado oscuro, b) el número de cruces del lado oscuro al lado iluminado, c) el tiempo que permanece en el lado iluminado y d) el tiempo de permanencia en el lado oscuro. Un mayor tiempo de permanencia en el lado iluminado puede inferir una conducta de ansiedad.

### **Prueba conducta motriz**

Esta prueba se utilizó para medir la actividad locomotriz general y el comportamiento exploratorio de los roedores. Todas las evaluaciones se realizaron entre las 8:00 y 11:00 horas bajo condiciones de temperatura controlada y sin habituación. Se seleccionaron aleatoriamente a los ratones del grupo control y del grupo  $Pb^{2+}$  500 ppm y se colocaron individualmente en una caja Plexiglas (45 x 345 x 325 cm) la cual fue colocada en un equipo Optovarimex (Columbus

Instruments, USA) durante un periodo de 10 minutos en los cuales se analizó la exploración vertical y horizontal del ratón (Figura 8).

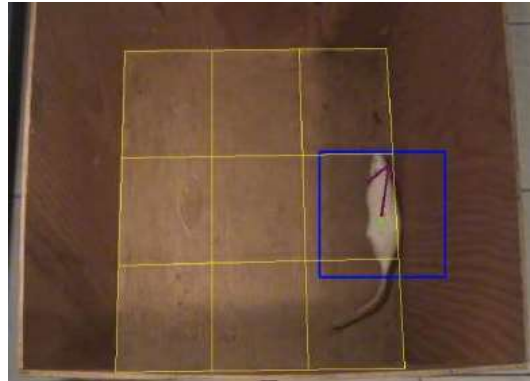


Figura 8. Conducta motriz

### **Prueba enterramiento de canicas**

Todas las evaluaciones se realizaron entre las 8:00 y 11:00 horas bajo condiciones de temperatura controlada y sin habituación. En una caja de policarbonato de 44 x 20 x 20 cm, previamente aseada con etanol y una cama de aserrín limpio y estéril, fueron colocadas 20 canicas distribuidas en 5 filas en la parte superior; se seleccionaron aleatoriamente a los ratones del grupo control y del grupo  $Pb^{2+}$  500 ppm y se colocaron individualmente en la caja preparada. La prueba tiene una duración de 15 minutos. Al finalizar el tiempo, se contabilizó: a) el número de canicas enterradas totalmente o cubiertas al menos en sus dos terceras partes con la cama de aserrín y b) número de canicas que se encuentran en la superficie (Figura 9). En esta prueba, el número de canicas enterradas es asociado con el grado de ansiedad o estrés presente en un ratón.



Figura 9. Enterramiento de canicas

## Prueba de conducta agresiva

Modelo de aislamiento- arena neutral.

Para esta prueba se juntaron los ratones machos del lote 1 y lote 2. Dos semanas previas a la evaluación, los ratones machos del grupo control y los tratados con  $Pb^{2+}$  fueron separados en cajas individuales de policarbonato de 44 x 20 x 20 cm. Una vez cumplido el periodo de aislamiento se seleccionaron pares de ratones (un ratón del grupo control y uno del grupo  $Pb^{2+}$ ), ambos ratones fueron colocados en una caja denominada “arena neutral”, la cual previamente fue aseada con etanol para eliminar el rastro de animales colocados con anterioridad, así como una cama de aserrín limpio y estéril. La prueba tiene una duración de 30 minutos, durante los cuales se evalúa: a) el tiempo de duración de las agresiones, definidas como el periodo de tiempo durante el cual uno de los ratones ejerce violencia sobre el otro. Las conductas violentas se definieron a partir del inicio de un combate y la persecución posterior al mismo, finalizando, cuando el ratón agresor pierde la atención sobre el ratón agredido por un periodo mayor a 10 segundos (Figura 10a), b) El número de ataques o combates, definido como el enfrentamiento físico entre los dos ratones con las siguientes características: los ratones se colocan en posición horizontal uno frente a otro y ejercen mordidas, rasguños y hasta el sometimiento de uno sobre el otro (Figura 10b), c) Dominancia, definida a partir del tiempo en el que un ratón muestra un claro dominio territorial en toda la arena neutral (Figura 10c).

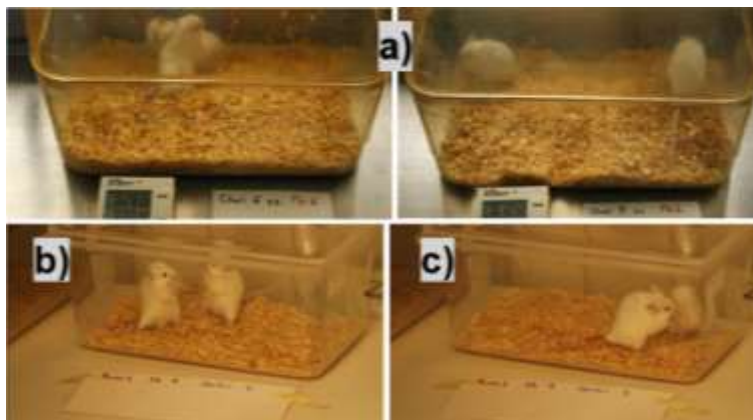


Figura 10. Conducta agresiva. Inciso a) agresiones, b) ataques y c) dominancia

## **Prueba peroxidación de lípidos**

Se preparó una mezcla cloroformo-metanol 2:1 (16 ml + 8 ml x muestra) y se mantuvo en hielo. Seguido de:

- 1) Homogeneizar el tejido en solución salina (SS) con ayuda del homogeneizador Glas-Col (estriado de ratón en 2 ml de SS).
- 2) Colocar 900  $\mu$ l del homogenizado en un tubo de ensayo cubierto con papel aluminio por duplicado. Para el blanco 1 ml de SS. Colocar los tubos en hielo.  
\*El sobrante guardar en tubos Eppendorf para medir ROS y proteínas (poner en nitrógeno líquido).
- 3) Adicionar 4 ml de la mezcla cloroformo-metanol a cada tubo y homogeneizar.
- 4) Incubar a 4°C durante 30 minutos protegiendo las muestras de la luz. Se observan dos fases.
- 5) Extraer la fase superior, usando bomba de vacío y pipetas Pasteur (no agitar o realizar movimientos bruscos).
- 6) Colocar 2 ml de la fase inferior en una celda de cuarzo y agregar 200  $\mu$ l de metanol. Mezclar con la pipeta 3 veces.
- 7) Leer en el espectrofotómetro de fluorescencia a 370 nm de excitación y 430 nm de emisión.
- 8) Dejar que el equipo de dos valores y anotar el tercer valor.

\*Para referencia de fluorescencia preparar una solución de quinina 5 mg en 50 ml de ácido sulfúrico 0.05M.

## **Absorción atómica**

El contenido de  $Pb^{2+}$  se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin-Elmer 3110 absorción atómica; Espectrofotómetro equipado con un horno de grafito HGA-600 y un auto muestreador AS-60). Las muestras de tejido fueron digeridas con 1 ml de ácido nítrico ( $HNO_3$ ) libre de metales concentrado (Suprapur, Merck, México) en un baño de agua a 60 °C durante 30 minutos. Después de la digestión, se separaron alícuotas de la solución inyectado en el horno de grafito para el análisis de  $Pb^{2+}$ . Las curvas se construyeron utilizando

Pb<sup>2+</sup> estándar comercial (Titrisol Merck, México). Los resultados se expresan como µg Pb/mg de tejido.

### **Análisis de datos**

Para comprobar la existencia de diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales, se realizaron análisis estadísticos dependiendo de los datos recabados. A los datos de los pesos se les realizó un análisis de ANOVA de dos vías de medidas repetidas. A la prueba de luz-obscuridad se le realizó la prueba de t y para las pruebas de enterramiento de canicas y conducta motriz se les realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Mientras que a la prueba de agresividad se le realizó un análisis de varianza no paramétrico de muestras independientes (prueba U de Mann-Whitney) y considerando una prueba de X<sup>2</sup>. Para la aplicación de las pruebas estadísticas se utilizó el programa GraphPad Prism versión 5.00. Los datos se expresaron como media ± desviación estándar, se compararon ambos grupos (Ctrl y Pb<sup>2+</sup> 500 ppm) y se consideró un valor de  $p < 0.05$  como diferencia estadísticamente significativa.

## VI. RESULTADOS

### Peso corporal

Una vez transcurridos los días de análisis y la aplicación de pruebas estadísticas, encontramos aumento en el peso promedio de los ratones machos control del lote 1 ( $31.60 \pm 0.11$ ) en comparación con los tratados con  $Pb^{2+}$  del lote 1 ( $29.70 \pm 0.08$ ), el cual no mostró diferencias significativas (Figura 11a). Respecto al lote 2 de ratones machos, encontramos aumento en los ratones tratados con  $Pb^{2+}$  del lote 2 ( $26.60 \pm 0.28$ ) en comparación con los controles del lote 2 ( $25.62 \pm 0.32$ ), sin mostrar diferencias significativas (Figura 11a).

Por otra parte, en los ratones hembras encontramos aumento en el lote 1 control ( $26.53 \pm 0.14$ ) en comparación con los tratados con  $Pb^{2+}$  ( $26.20 \pm 0.13$ ), sin mostrar diferencias significativas (Figura 11b). En cuanto al lote 2 hubo aumento en el control ( $23.02 \pm 0.30$ ) en comparación con las hembras tratadas con  $Pb^{2+}$  ( $22.97 \pm 0.33$ ), sin mostrar diferencias estadísticas (Figura 11b).

No se muestran diferencias significativas entre tratamientos, pero si hay diferencias entre lotes debido a la diferencia de edades entre los ratones.

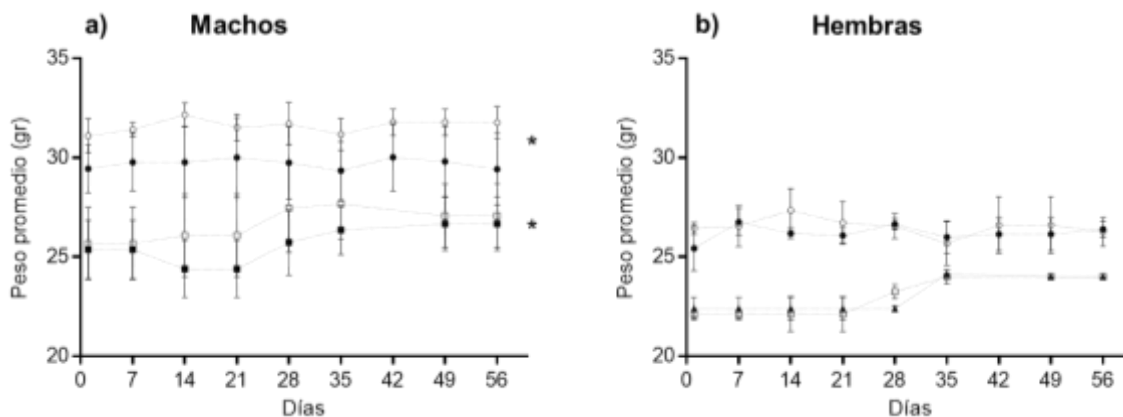


Figura 11. Resultados de los pesos en los controles y tratamientos de  $Pb^{2+}$  500 ppm (machos y hembras). Inciso a) peso promedio (gramos) en machos: círculos blancos control lote 1 (cuatro grupos;  $n=6-7$ ), círculos negros  $Pb^{2+}$  (cuatro grupos;  $n=6-5$ ), cuadros blancos control lote 2 (tres grupos;  $n=6-7$ ), cuadros negros  $Pb^{2+}$  lote 2 (tres grupos;  $n=5-6$ ). Mientras que b) peso promedio (gramos) en hembras: círculos blancos control lote 1 (tres grupos;  $n=6$ ), círculos negros  $Pb^{2+}$  (tres grupos;  $n=7$ ), cuadros blancos control lote 2 (dos grupos;  $n=3-4$ ), cuadros negros  $Pb^{2+}$  lote 2 (dos grupos;  $n=4$ ). Cada punto representa el valor de cada resultado independiente, la línea representa el valor de la media  $\pm$  ee.

## Prueba luz-obscuridad

Los resultados en los machos muestran disminución significativa ( $F_{6.312,7,7}= 0.0266$ ) en el tiempo que los ratones permanecen en la luz ( $132.3\pm 20.74$  vs  $88.50\pm 8.257$ ;  $n=8$ ) y aumento significativo ( $F_{6.208,7,7}= 0.0279$ ) en el tiempo que permanecen en la obscuridad ( $168.0\pm 20.55$  vs  $211.5\pm 8.248$ ;  $n=8$ ), así como en el tiempo de latencia ( $F_{6.06,7,7}= 0.0001$ ) ( $110.6\pm 21.67$  vs  $39.88\pm 3.715$ ;  $n=8$ ). Resultados similares se observan en hembras disminución significativa ( $F_{6.067,11,14}= 0.0031$ ) en el tiempo que los ratones permanecen en la luz ( $195.1\pm 28.92$  vs  $99.29\pm 10.87$ ;  $n=14$ ) y aumento significativo ( $F_{5.505,11,14}= 0.005$ ) en el tiempo que permanecen en la obscuridad ( $116.8\pm 27.31$  vs  $201.6\pm 10.78$ ;  $n=14$ ), sin embargo, el tiempo de latencia no muestra diferencias estadísticamente significativas (Figura 12).

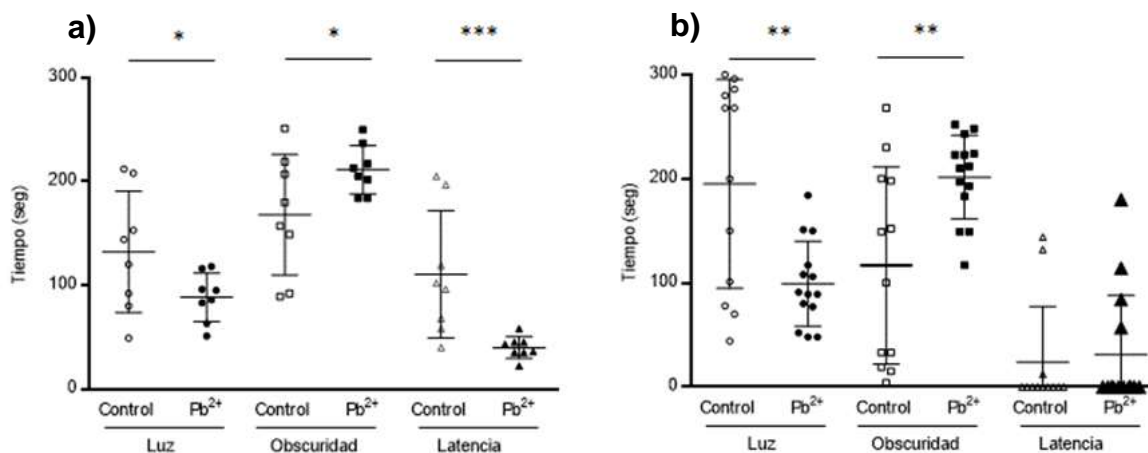


Figura 12. Se muestran los resultados de la prueba de luz-obscuridad en a) machos y b) hembras del lote 1. Se observa el tiempo que el ratón permanece en la zona con luz o en la zona oscura, así como el tiempo de latencia. Prueba de t para cada condición n=12-14 por grupo.

## Prueba conducta motriz

Los resultados mostraron que no existen diferencias significativas de los movimientos horizontales en machos entre los grupos control y los grupos tratados con Pb<sup>2+</sup> tanto del lote 1 ( $4999\pm 218$ ) como del lote 2 ( $5873\pm 617$ ). Sin embargo, encontramos mayor cantidad de los movimientos horizontales del grupo control del lote 2 ( $7381\pm 628$ ) en comparación con el grupo control del lote 1 ( $4945\pm 237$ ) el cual tuvo diferencias significativas ( $F_{(4,39)}= 0.022$ ) (Figura 13a). En los movimientos

verticales en machos, no hubo diferencias significativas entre los grupos control y los grupos tratados con  $Pb^{2+}$  tanto del lote 1 ( $153\pm 27$ ) como del lote 2 ( $163\pm 21$ ). Sin embargo, encontramos mayor número de los movimientos verticales del grupo control del lote 2 ( $163\pm 20$ ) en comparación con el grupo control del lote 1 ( $106.8\pm 8$ ) teniendo diferencias significativas ( $F_{(4,39)}= 0.022$ ) (Figura 13b).

Por otra parte, en hembras se encontró mayor número en los movimientos horizontales del grupo tratado con  $Pb^{2+}$  del lote 2 ( $3863\pm 649$ ) en comparación con el grupo control del lote 1 ( $2371\pm 322$ ) mostrando diferencias significativas ( $F_{(4,39)}= 0.0003$ ) (Figura 13c); de forma similar el grupo control lote 2, mostró mayor número de movimientos en comparación con el grupo tratado con  $Pb^{2+}$  ( $3144\pm 850$ ) sin mostrar diferencias significativas (Figura 13c). Sin embargo, se mostró mayor número de movimientos en el grupo tratado con  $Pb^{2+}$  del lote 1 ( $5381\pm 330$ ) en comparación con el grupo tratado con  $Pb^{2+}$  del lote 2 mostrando diferencias significativas ( $F_{(4,39)}= 0.0002$ ) (Figura 13c).

En los movimientos verticales en hembras se encontró en el lote 1 un mayor número de movimientos en el grupo tratado con  $Pb^{2+}$  ( $75\pm 9$ ) en comparación con el grupo control ( $33\pm 4$ ) la cual fue estadísticamente significativa ( $F_{(4,39)}= 0.0003$ ) (Figura 13d). En el lote 2 hubo aumento en el grupo control ( $99\pm 22$ ) en comparación con el grupo tratado con  $Pb^{2+}$  ( $71\pm 9$ ) sin mostrar diferencias significativas (Figura 13d). Sin embargo, se mostró aumento en el grupo control del lote 2 ( $99\pm 22$ ) en comparación con el grupo control del lote 1 ( $33\pm 4$ ) siendo estadísticamente significativo ( $F_{(4,39)}= 0.0003$ ) (Figura 13d).



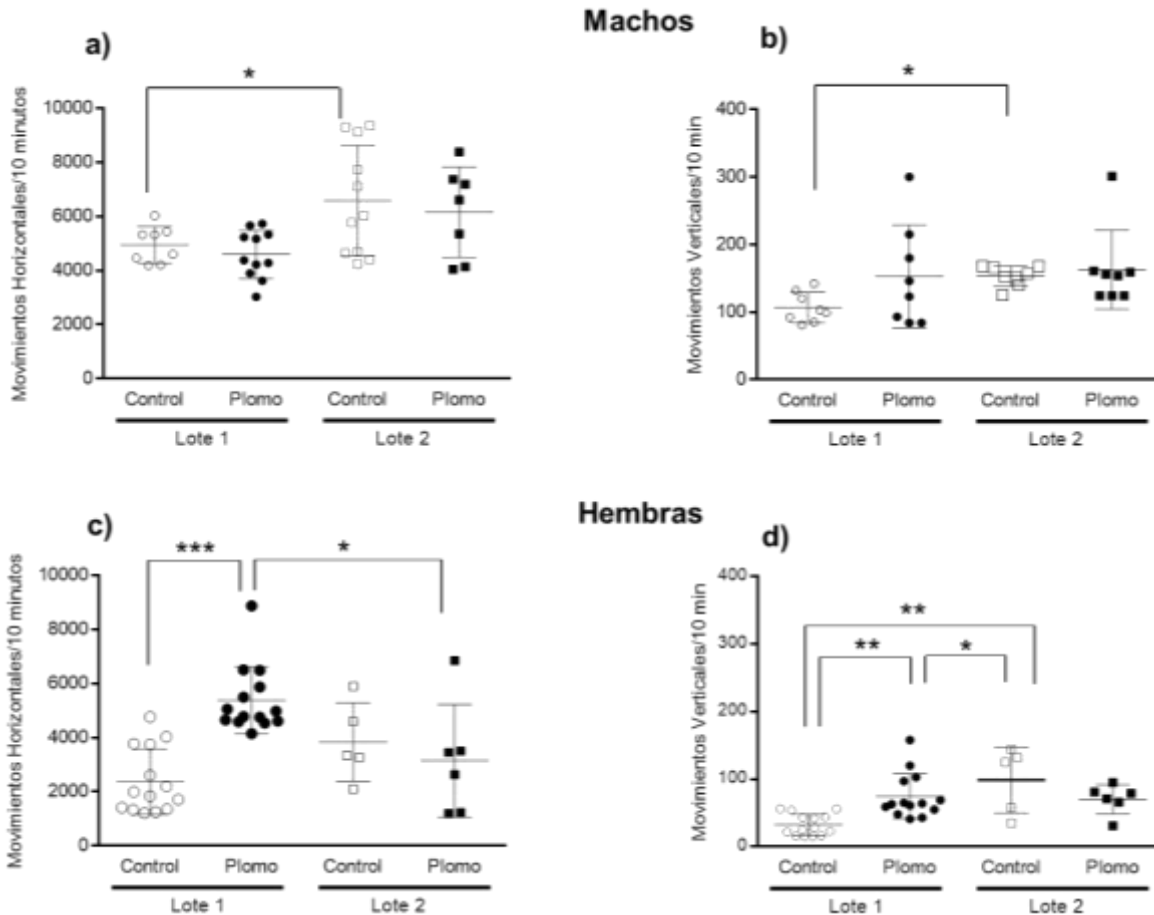


Figura 13. Se muestran los resultados de la prueba conducta motriz teniendo en el panel superior a machos y en el panel inferior hembras. Los incisos a), c) corresponden a los movimientos horizontales mientras que los incisos b), d) los movimientos verticales. Kruskal-Wallis n=5-8 por grupo.

### Prueba enterramiento de canicas

La prueba de enterramiento de canicas, muestra diferencias significativas entre los grupos control de L1 y L2 ( $9 \pm 2$  vs  $4 \pm 1$ , respectivamente) ( $F_{(4,32)} = 0.0001$ ) y entre los grupos expuestos  $Pb^{2+}$  L1 y L2 ( $5 \pm 0$  vs  $1 \pm 0$  respectivamente) ( $F_{(4,32)} = 0.05$ ) y diferencias entre el L1 control vs L2  $Pb^{2+}$  ( $F_{(4,32)} = 0.05$ ). En el caso de las hembras encontramos diferencias significativas entre los Grupos de  $Pb^{2+}$  L1 y L2 comparados contra control del L2 ( $5 \pm 0$ ;  $3 \pm 1$  vs  $13 \pm 2$ ) ( $F_{(4,39)} = 0.05$ ;  $=0.01$  respectivamente) (Figura 14).

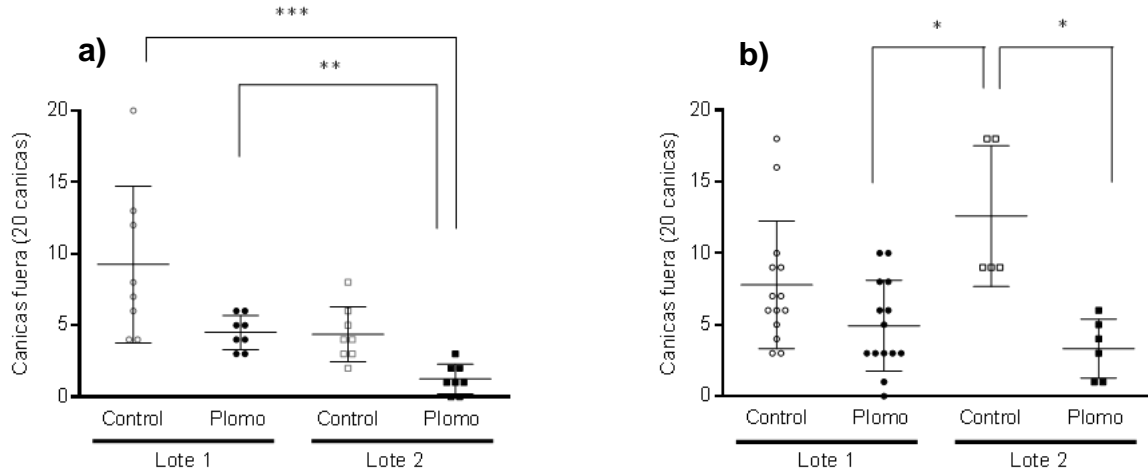


Figura 14. Se muestran los resultados de la prueba de enterramiento de canicas. Inciso a) Machos y b) Hembras. Se observa incremento en el número de canicas enterradas en los grupos expuestos a  $Pb^{2+}$ . Kruskal-Wallis  $n=5-8$  por grupo.

### Prueba de conducta agresiva

Después de realizar las pruebas de conducta agresiva, encontramos incremento en el tiempo de duración de las agresiones en los ratones tratados con  $Pb^{2+}$  ( $147.3 \pm 34.19$  s) en comparación con controles ( $58.2 \pm 8.2$  s), la cual fue estadísticamente significativa ( $F_{(1,11)} = 0.048$ ) (Figura 15a). Con respecto al número de ataques, los ratones tratados con  $Pb^{2+}$  muestran aumento ( $8 \pm 3$ ) en el número promedio de ataques con respecto al control ( $5 \pm 1$ ), sin mostrar diferencias estadísticas ( $F_{(1,11)} = 0.5846$ ) (Figura 15b).

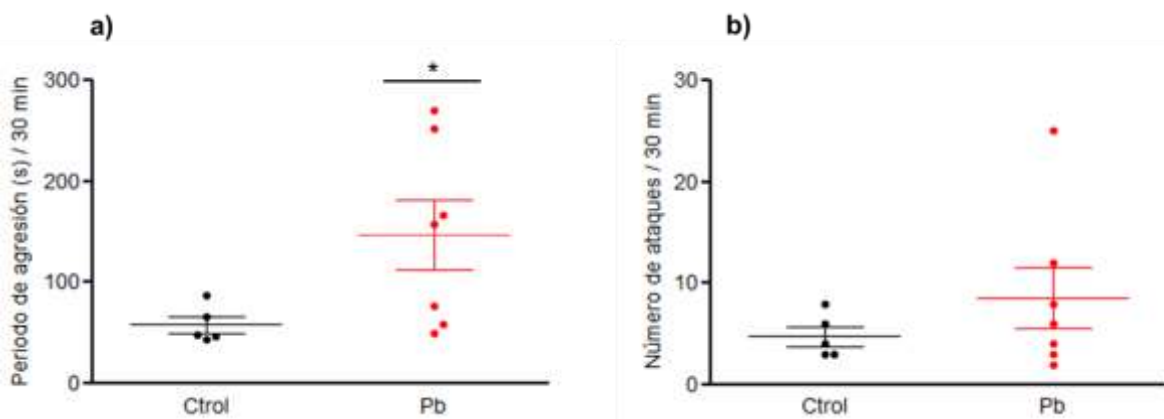


Figura 15. Se muestran los resultados de la conducta agresiva en el tratamiento de 500 ppm. El inciso a), corresponde al periodo de agresión mientras que b) al número de ataques. Cada punto representa el valor de cada resultado independiente, la línea representa el valor de la media  $\pm$  ee. ( $n=5-7$ ; U de Mann-Whitney).

## Prueba peroxidación de lípidos

Debido al tiempo de almacenamiento de las muestras son se encontraron datos concluyentes con respecto a esta técnica.

## Niveles de plomo

De forma general se observa incremento estadísticamente significativo (St  $t_{(4,14)}=0.0011$ ; Cx  $t_{(10,12)}<0.0001$ ; Hp  $t_{(6,15)}<0.0001$ ; y Cb  $t_{(10,12)}<0.0001$ ) en las concentraciones de  $Pb^{2+}$  en los tejidos cerebrales comparados contra su control, tanto en machos (St  $0.873\pm 0.073$  vs  $7.16\pm 1.18$ ; Cx  $0.334\pm 0.0407$  vs  $4.620\pm 0.392$ ; Hp  $1.091\pm 0.174$  vs  $8.836\pm 1.065$ ; y Cb  $0.392\pm 0.03$  vs  $5.057\pm 0.320$  ug/mg de tejido) como en hembras (St  $t_{(9,18)}<0.0001$ ; Cx  $t_{(9,18)}<0.0001$ ; Hp  $t_{(9,15)}<0.0001$ ; y Cb  $t_{(11,16)}<0.0001$ ) (St  $1.60\pm 0.25$  vs  $8.91\pm 0.753$ ; Cx  $0.962\pm 0.242$  vs  $8.405\pm 0.77$ ; Hp  $1.1474\pm 0.083$  vs  $7.99\pm 0.578$ ; y Cb  $0.762\pm 0.075$  vs  $6.432\pm 0.507$  ug/mg de tejido), así como en los niveles de  $Pb^{2+}$  en sangre  $22.78\pm 3.728$  vs  $307.7\pm 20.70$  en machos;  $16.70\pm 0.8339$  vs  $436.4\pm 48.47$  ppm en hembras (Figura 16).

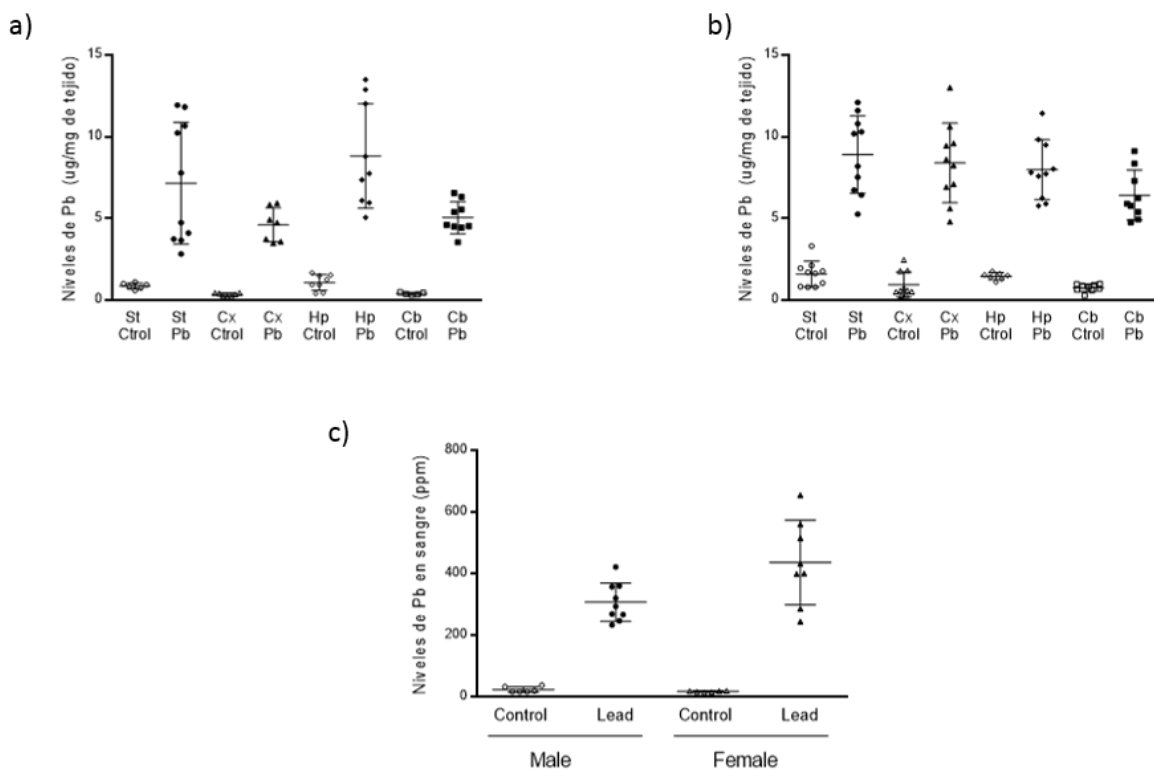


Figura 16. Niveles de  $Pb^{2+}$  en tejido de diferentes regiones cerebrales de a) machos y b) hembras, así como los niveles en c) sangre. Se muestran las medias  $\pm$  los ee.  $n=6-9$ . Prueba de t para cada región grupo  $Pb^{2+}$  vs Control \* $p<0.05$ ; \*\* $p<0.01$ .

## VII. DISCUSIÓN

El plomo ( $Pb^{2+}$ ) es un metal pesado no esencial para el ser humano. Sin embargo, su uso en algunos tipos de industria como en la industria de baterías (Valbuena, P. et al., 2001) sigue siendo un factor importante de exposición para los seres humanos, principalmente en trabajadores adultos expuestos a este metal. Las diferencias principales de los efectos neurológicos de la exposición a  $Pb^{2+}$  en adultos, en relación con la de infantes, radica en la maduración de la barrera hematoencefálica, la cual permea la entrada y salida de sustancias consideradas neurotóxicas, entre las cuales se encuentra el plomo. Un mecanismo propuesto por el cual el plomo puede inducir daño neurológico en adultos, involucra al sistema inmune, de forma importante a la respuesta ante patógenos (Marchetti, C. 2003). En este trabajo el objetivo fue examinar el efecto psico-social de la exposición crónica a  $Pb^{2+}$  en ratones carentes de células cebadas (W-sh), para tener una aproximación de los efectos del  $Pb^{2+}$  sobre la neuro-inflación inducida por este metal.

De forma general se probaron dos grupos de diferentes edades, los resultados muestran que independientemente de la edad la exposición a  $Pb^{2+}$  no tiene efecto sobre el incremento de peso, ni en machos ni en hembras. En cuanto a las pruebas psico-sociales, observamos que los ratones tanto hembras como machos *i)* aumentan el tiempo que permanecen en oscuridad, asociando esto a un incremento en los estados de alerta, prefiriendo estar en una zona donde de forma natural se encuentran mejor habituados y les resulta más seguro. Con la finalidad de observar si el resultado anterior no era influenciado por una disminución en la actividad motriz o debido a un letargo originado como consecuencia de la exposición a  $Pb^{2+}$ , realizamos la *ii)* prueba de conducta motriz, en donde se puede observar de forma general incremento en los movimientos de los ratones expuestos a  $Pb^{2+}$ , descartando con esto que el resultado de luz-oscuridad se atribuyera a una menor actividad motriz, inclusive esta prueba puede ser un indicio del incremento en la ansiedad que los ratones expuestos de forma crónica a  $Pb^{2+}$  manifiesta. Para verificar esta idea se realizó *iii)* la prueba de enterramiento de

canicas, la cual evalúa el estado de ansiedad de los ratones, los resultados mostraron que los ratones expuestos a  $Pb^{2+}$  muestran un mayor número de canicas enterradas, lo cual se interpreta como aumento en la ansiedad a objetos nuevos.

Diferentes trabajos han asociado la exposición a  $Pb^{2+}$  con un incremento en los crímenes violentos, se descubrió que las concentraciones de  $Pb^{2+}$  en el aire a mediados y finales del siglo XX predecían las tasas de agresión un poco más de 20 años después en los Estados Unidos (Sampson y Winter, 2018), el efecto del  $Pb^{2+}$  sobre la conducta agresiva aún sigue estando en controversia, sin embargo, nuestros resultados *iv)* muestran incremento en la conducta agresiva por parte de los ratones expuesto a  $Pb^{2+}$ . Para asociar los resultados anteriores de forma directa con  $Pb^{2+}$ , se evaluaron los niveles de  $Pb^{2+}$  en diferentes regiones cerebrales, encontrándose que los niveles de este metal se incrementan en regiones que participan en el control motor y en el control de conductas sociales como corteza e hipocampo.

## VIII. CONCLUSIONES

El  $Pb^{2+}$  muestra afectaciones a nivel conductual ocasionando mayor nivel de estrés o miedo a objetos nuevos como en el caso de las canicas, así como mayor comportamiento exploratorio y mayor predisposición a las conductas agresivas. Además de que las regiones cerebrales con mayor absorción de  $Pb^{2+}$  fueron estriado y corteza tanto en machos como en hembras y los niveles de  $Pb^{2+}$  en sangre fueron mayores en hembras. Igualmente, los ratones tratados con  $Pb^{2+}$  fueron los que presentaron mayor duración y número de ataques en la prueba de conducta agresiva. Por lo que concluimos que la exposición crónica a plomo en adultos puede ser un factor desencadenante de conductas antisociales como el estrés, la ansiedad y la conducta agresiva.



**UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA  
METROPOLITANA**  
Unidad Xochimilco



**División de Ciencias Biológicas de la Salud**

**Lic. Química Farmacéutica Biológica**

**Servicio social**

**Lidia Sofía Martínez Hernández**

**Matricula: 2162044440**

**Proyecto:**

**Alteraciones conductuales y neuroquímicas inducidas por la  
exposición a plomo en ratones adultos carentes de células  
cebadas.**

**Dirección: Av. Canal de castera no. 188, 54934, Tultitlán, Estado  
de México.**

**Teléfono: 5559974681**

**Asesores:**

**Mtro. Felipe Mendoza Pérez**

**Dr. Juan Carlos Martínez Lazcano**

**Fecha inicio: 24/5/2022**

**Fecha término: 02/1/2023**

## Resumen

El plomo ( $Pb^{2+}$ ), de forma histórica como contemporánea, tiene importantes implicaciones teóricas para el estudio del deterioro cognitivo y conductas antisociales; existe evidencia de que el  $Pb^{2+}$  agrava la hiperactividad, el comportamiento impulsivo y los problemas de salud mental, conductas que son correlacionadas con la predisposición a conductas agresivas relacionadas con la delincuencia.

Uno de los mecanismos propuestos para explicar estas alteraciones, involucra a la respuesta inflamatoria celular y molecular en el sistema nervioso central, por lo que, el objetivo de este trabajo fue examinar el efecto psico-social de la exposición crónica a plomo en ratones transgénicos carentes de células cebadas machos y hembras adultas de la cepa  $Kit^{Wsh/Wsh}$  (Wsh), los cuales fueron expuestos a 500 ppm de  $Pb^{2+}$  en el agua de bebida durante un periodo de tres meses y alojados en un ambiente controlado y alimentados con dieta estándar. Una vez concluido el periodo de exposición, a los ratones de los grupos control y tratados se les realizó una batería de pruebas conductuales que incluyeron conducta motriz, prueba de luz-obscuridad, enterramiento de canicas y conducta agresiva en su test de arena neutral, además de su seguimiento corporal.

Finalmente se obtuvo que el  $Pb^{2+}$  muestra afectaciones a nivel conductual ocasionando mayor nivel de estrés o miedo a objetos nuevos como en el caso de las canicas, así como mayor comportamiento exploratorio y mayor predisposición a las conductas agresivas. Además de que las regiones cerebrales con mayor absorción de  $Pb^{2+}$  fueron estriado y corteza tanto en machos como en hembras y los niveles de  $Pb^{2+}$  en sangre fueron mayores en hembras. Igualmente, los ratones tratados con  $Pb^{2+}$  fueron los que presentaron mayor duración y número de ataques en la prueba de conducta agresiva. Por lo que concluimos que la exposición crónica a plomo en adultos puede ser un factor desencadenante de conductas antisociales como el estrés, la ansiedad y la conducta agresiva.



## IX. REFERENCIAS

- Benavides, F., & Guénet, J. (2003). Manual de genética de roedores de laboratorio: Principios básicos y aplicaciones. Capítulo IV. Las líneas genéticamente estandarizadas y los controles de la pureza genética. Universidad de Alcalá. Laboratory Animals Ltd. SECAL
- Courtet, P., Ducasse, D., & Giner, L. (2015). Neuroinflamación en las conductas suicidas. Repercusiones clínicas y sociales de la conducta suicida. Encuentros en Psiquiatría. Enfoque Editorial, Madrid, 29-47. Disponible en: <https://www.adamedfarma.es/wp-content/uploads/2018/03/Encuentros-en-psiQUIATR%C3%ADa.-Repercusiones-cl%C3%ADnicas-sociales-de-la-conducta-suicida.pdf#page=29>
- Dong, H., Zhang, X., & Qian, Y. (2014). Mast cells and neuroinflammation. Medical science monitor basic research, 20, 200–206. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4282993/>
- Dyatlov, V. A., & Lawrence, D. A. (2002). Neonatal lead exposure potentiates sickness behavior induced by *Listeria monocytogenes* infection of mice. Brain, behavior, and immunity, 16(4), 477–492. <https://doi.org/10.1006/brbi.2001.0641>
- Dyatlov, V. A., Platoshin, A. V., Lawrence, D. A., & Carpenter, D. O. (1998). Lead potentiates cytokine- and glutamate-mediated increases in permeability of the blood-brain barrier. Neurotoxicology, 19(2), 283–291.
- Grimbaldeston, MA, Chen, CC, Piliponsky, AM, Tsai, M., Tam, SY y Galli, SJ (2005). Ratones Kit W-sh/W-sh mutantes W-sash c-kit deficientes en mastocitos como modelo para investigar la biología de los mastocitos *in vivo*. *La revista americana de patología*, 167 (3), 835-848.
- Hemphill, F. E., Kaeberle, M. L., & Buck, W. B. (1971). Lead suppression of mouse resistance to *Salmonella typhimurium*. Science (New York, N.Y.), 172(3987), 1031–1032. <https://doi.org/10.1126/science.172.3987.1031>
- Hendriksen, E., van Bergeijk, D., Oosting, R. y Redegeld, F. (2017). Mastocitos en Neuroinflamación y trastornos cerebrales. Neurociencia &erio; Biobehavioral Reviews, 79, 119-133. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.05.001>

- Huat, T. J., Camats-Perna, J., Newcombe, E. A., Valmas, N., Kitazawa, M., & Medeiros, R. (2019). Metal Toxicity Links to Alzheimer's Disease and Neuroinflammation. *Journal of molecular biology*, 431(9), 1843–1868. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.01.018>
- Lahat, N., Shapiro, S., Froom, P., Kristal-Boneh, E., Inspector, M. y Miller, A. (2002). El plomo inorgánico mejora la elevación inducida por citoquinas de la expresión de MMP-9 de metaloproteínasa de matriz en células gliales. *Diario de neuroinmunología*, 132 (1-2), 123-128.
- Marchetti, C. (2003) Molecular targets of lead in brain neurotoxicity. *neurotox res* 5, 221–235. <https://doi.org/10.1007/BF03033142>
- Martínez-Lazcano JC, López-Quiroz A, Alcantar-Almaraz R, Montes S, Sánchez-Mendoza A, Alcaraz-Zubeldia M, Tristán-López LA, Sánchez-Hernández BE, Morales-Martínez A, Ríos C and Pérez-Severiano F (2018). A Hypothesis of the Interaction of the Nitergic and Serotonergic Systems in Aggressive Behavior Induced by Exposure to Lead. *Front. Behav. Neurosci.* 12:202. doi: 10.3389/fnbeh.2018.00202
- Mora Gallegos, A., & Salas Castillo, S. (2014). Animal models of fear and anxiety: neurobehavioral descriptions. Universidad de Costa Rica, Costa Rica. *Actualidades en Psicología*, 28(117), 1-12. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15517/ap.v28i117.14595>
- Organización Mundial de la Salud (2022). Directriz de la OMS para el tratamiento clínico de la exposición al plomo. Disponible en: <https://www.who.int/es/publications/i/item/9789240037045>
- Placer Perdomo, Diana; Rejón-Orantes, José Del Carmen & Roldán, Gabriel (2011). Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas. *Universitas Medica*, 52 (1) ,78-89. ISSN: 0041-9095. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231019866006>
- Polanco, L. A., Vargas, C., & Góngora, I. M. E. (2011). Modelos animales: una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad. *Suma psicológica*, 18(2), 99-110.

- Riera, N. M., Gandur, M. J., Soria, N., & de Martínez Villa, N. R. (2001). Evaluación de las alteraciones conductuales y dopaminérgicas en ratones con bajas concentraciones de plomo. *Revista de Toxicología*, 18(2), 87-91. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91918207>
- Salas-Marcial, C., Garduño-Ayala, MA, Mendiola-Ortiz, P., Vences-García, JH, Zetina-Román, VC, Martínez-Ramírez, OC, & Ramos-García, MDL (2019). Fuentes de contaminación por plomo en alimentos, efectos en la salud y estrategias de prevención. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 20 (1). ISSN: 1665-0204. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81359562002>
- Sampson, R. J., and Winter, A. S. (2018). Poisoned development assessing childhood lead exposure as a cause of crime in a birth cohort followed through adolescence. *Criminology* 56, 269–301. doi: 10.1111/1745-9125.12171
- Traina G. (2021). The role of mast cells in the gut and brain. *Journal of integrative neuroscience*, 20(1), 185–196. <https://doi.org/10.31083/j.jin.2021.01.313>
- Valbuena P., J. J., Duarte A., M., & Marciales C., C. (2001). Evaluación de plomo en sangre de trabajadores de industrias de baterías. *Revista Colombiana De Química*, 30(1), 17–25. Recuperado a partir de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/22279>
- Winter, A. S., & Sampson, R. J. (2017). From Lead Exposure in Early Childhood to Adolescent Health: A Chicago Birth Cohort. *American journal of public health*, 107(9), 1496–1501. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2017.303903>