

*“L’home res pot aprendre si no  
és en virtut del que ja sap”  
Aristòtil*

## I. INTRODUCCIÓ

### 1. Conceptes generals.

#### 1.1. Toxicologia. Conceptes bàsics.

La *Toxicologia* és la ciència que estudia les substàncies químiques i els agents físics, en tant en quant siguin capaços de produir alteracions patològiques als éssers vius, a la vegada que estudia els mecanismes de producció d'aquestes alteracions i els medis per contrarestar-les, així com els procediments per detectar, identificar i determinar aquests agents i valorar el seu grau de toxicitat (Repetto, 1997).

Els toxicòlegs estudien la naturalesa dels efectes adversos (inclosos els seus mecanismes d'acció bioquímica i molecular) d'aquestes substàncies i/o agents, i valoren la probabilitat de la seva presència (Eaton i Klaassen, 1996).

Una substància es considera *agent tòxic* quan és capaç de produir en un organisme un efecte nociu o perjudicial per a ell. Aquests efectes nocius poden manifestar-se en poques hores o tardar varis mesos en aparèixer. Així, seguint un criteri cronològic podem classificar la toxicitat en:

-*toxicitat aguda*: quan els efectes adversos apareixen en un període menor a 24 hores després de l'exposició a l'agent tòxic.

-*toxicitat subaguda*: els efectes nocius apareixen a partir de les 24 hores i fins a 14 dies després de l'exposició.

-*toxicitat subcrònica*: els efectes adversos es manifesten a partir dels 15 dies i fins a 3 mesos.

-*toxicitat crònica*: quan la manifestació dels efectes nocius apareix a partir dels 3 mesos (Ladron de Guevara i Moya, 1995).

Altres conceptes d'importància en toxicologia són:

-*DL 50* ó *dosis letal 50*: és la dosi calculada estadísticament, d'un agent químic o físic (radiació), que s'espera que produeixi mortalitat al 50% dels organismes d'una població sota un conjunt de condicions definides.

*-NOEL ó nivell sense efecte observable*: és la major concentració o quantitat d'una substància, obtinguda experimentalment, que no causa alteracions en la morfologia, capacitat funcional, creixement, desenvolupament o duració de la vida dels organismes, distingibles dels observats en organismes normals (controls) de la mateixa espècie o soca, sota concentracions idèntiques a les de l'exposició.

*-xenobiòtic*: en sentit estricte, és qualsevol substància que interactua amb un organisme i que no és un dels seus components naturals (substància exògena, substància estranya) (Repetto, 1997).

El contingut de la toxicologia pot ser molt divers segons l'enfocament de l'estudi. Així trobem diferents disciplines dins la toxicologia, com la clínica, la mediambiental o l'experimental. Aquesta última, ja sigui mitjançant models "in vitro" o "in vivo" (animals), intenta descriure els efectes dels tòxics, estudia els mecanismes d'acció i possibles tractaments sempre sota condicions de laboratori que permetin controlar un major nombre de variables. En el cas d'estudis amb animals, el que es pretén és:

- Escollir espècies i soques semblants i que permetin les majors similituds amb els humans en quant al metabolisme de la substància.
- Escollir vies d'administració i temps el més adequats possibles pel que volem estudiar.
- Estudiar diferents dosis per tal d'establir una relació dosi-efecte.
- Utilitzar mètodes sensibles per a la detecció dels efectes tòxics.

En els experiments de toxicologia amb animals de laboratori s'intenta que la via d'administració i la duració del tractament reflecteixin el que seria una exposició humana al tòxic assajat, i que el metabolisme dels animals s'assembli el més possible a l'humà (Manson i Kang, 1989). En qualsevol cas, no sempre és possible aquesta similitud amb la que seria l'exposició al tòxic en humans per raons òbvies, i també dependrà del que es vulgui avaluar i de les característiques de l'estudi.

## **1.2. Toxicologia de la reproducció i el desenvolupament. Conceptes bàsics.**

Els efectes adversos que les substàncies químiques produeixen sobre la reproducció i el desenvolupament en mamífers varia en funció de l'etapa en la qual es produeix l'exposició.

Generalment, els efectes produïts en els sistemes reproductors dels adults es refereixen a canvis en la fertilitat i alteracions en l'espermatogènesi o ovogènesi. L'exposició perinatal s'associa amb dèficits en el desenvolupament i dèficits en les funcions orgàniques, mentre que els efectes produïts prenatalment s'associen amb defectes al naixement i canvis en el desenvolupament i maduració del sistema nerviós central (SNC) (Zelikoff i cols, 1995). Els efectes més greus de l'exposició prenatal a agents tòxics s'associen amb mort abans del naixement (embrioletalitat), i altres valorats en el moment del naixement: les malformacions i el retard en el creixement (Neubert i cols, 1980). Un dels períodes crítics de susceptibilitat als tòxics és l'organogènesi, etapa on la majoria dels sistemes orgànics s'estan formant. El període d'organogènesi varia d'unes espècies a altres. Així per exemple l'organogènesi en el ratolí es considera del dia 6 al 15 de gestació. En humans seria del dia 20 al 55 de gestació (Slikker, 1994).

Per estudiar de manera experimental els efectes dels agents tòxics, els animals més utilitzats són rates i ratolins, donat el seu curt període de gestació i l'ampli nombre d'individus per ventrada, així com el seu baix cost i fàcil manipulació. Actualment, per poder classificar i interpretar millor els resultats, la majoria dels protocols divideixen els treballs en tres fases o classes d'estudis per a l'estudi dels tòxics de la reproducció i del desenvolupament (Bosque, 1991). Depenent dels objectius plantejats serà necessari elaborar un estudi de fase I, II o III.

*Fase I:* Es tracta de determinar els efectes que la substància química exerceix sobre la fertilitat, etapes inicial i final de la gestació, part i lactància. El tòxic s'administra a mascles i femelles adults abans de la concepció.

Fase II: S'avalua la toxicitat materna i els potencials embriotòxic i teratogènic de la substància química. Els experiments de la fase II són molt rellevants ja que en ells s'examinen els efectes maternotòxics i els potencials embriotòxics i teratogènics de l'agent tòxic quan aquest s'administra durant el període d'organogènesi (Manson i Kang, 1989). En la fase II, la dosi pot administrar-se durant tota la gestació, que s'assemblaria més a l'exposició humana, o durant certs moments o períodes de la gestació que es consideren més sensibles a l'efecte del tòxic a estudiar. D'aquesta manera, podem perfilar millor els efectes de l'exposició tòxica en moments concrets del desenvolupament. S'acostumen a valorar les següents variables:

- la toxicitat materna es referiria al conjunt d'efectes nocius sobre la mare gestant, el comportament, increment de pes, ingesta, pes dels òrgans, funcionalitat orgànica, i incidència de lesions macro o microscòpiques en animals gestants exposats a una determinada substància química (Khera, 1987; Domingo i cols, 1988).
- l'embriotoxicitat i la fetotoxicitat es refereixen a qualsevol efecte tòxic sobre el producte de la concepció com a resultat de l'exposició prenatal. La característica distintiva entre aquests dos termes és la fase del desenvolupament durant el qual es dona lloc aquest efecte, si és en la fase d'embrió –embriotoxicitat- o en la fase de fetus –fetotoxicitat-. Els termes inclouen malformacions i variacions, alteracions en el creixement i mort en l'úter.

En humans, l'estadi d'embrió dura fins aproximadament 8 setmanes després de la concepció i és seguida de l'estadi fetal (U.S. EPA, 1986, 1991a). En ratolins l'estadi d'embrió es donaria entre els 4 dies i mig fins els 15 dies després de la concepció aproximadament, al qual seguiria l'estadi de fetus (Rough, 1990). En rates, fins a finals de la segona setmana de gestació es dona l'estadi d'embrió, al qual seguiria l'estadi de fetus (Rowett, 1960). Així, en rosegadors, es donaria l'estadi fetal a partir del dia 15 de gestació fins el moment del part. La fetotoxicitat acostuma a donar-se quasi sempre junt amb la toxicitat materna, i molt sovint es considera com a conseqüència directe d'aquesta (Khera, 1984).

- podem parlar de *teratogènia* quan una substància provoca l'aparició d'anomalies permanents, estructurals o funcionals (Manson i Kang, 1989).

*Fase III:* S'avaluen els efectes de la substància sobre l'etapa final de la gestació, part, lactància, viabilitat neonatal i desenvolupament de les cries. En aquesta fase el tòxic s'administra des del període final de la gestació fins el deslletament (Domingo i cols, 1988).

### **1.3. Neurotoxicologia. Generalitats.**

La *neurotoxicologia* és la ciència que estudia els efectes adversos estructurals o funcionals en el sistema nerviós (SN) provocats per l'exposició a agents químics. La neurotoxicitat pot ser permanent o reversible, i es pot expressar en canvis estructurals o alteracions funcionals (neuroquímiques, electrofisiològiques, conductuals) (Dorman, 2000). Disfuncions neurològiques característiques, canvis en la conducta i neuropatologia, han estat descrits en humans i en animals com a resultat de l'exposició a mercuri, plom, cadmi, manganès, alumini o arsènic entre altres metalls (Chang, 1996a).

El SN està compost pel cervell, cerebel, tronc del cervell, medulla espinal (sistema nerviós central –SNC-) i els nervis perifèrics (sistema nerviós perifèric –SNP-) que proporcionen innervació motora i sensitiva. El SN està clarament involucrat en el manteniment de la conducta sota condicions normals, així com sota l'exposició a agents químics (MacPhail, 1994).

En neurotoxicologia, els símptomes i signes com les alteracions motores, modificacions sensorials, o l'estat mental alterat, sorgeixen dels trastorns de les funcions de cèl·lules especialitzades del SNC i del sistema nerviós perifèric (SNP). Desviacions dels nivells de rendiment esperat en tasques específiques i tests de funcionament neurològic són considerats com anormalitats (Feldman i cols, 1999).

El SN és el sistema més complex del nostre organisme. A més a més de les funcions de coordinació, les quals estan comunament associades amb el cervell (p. ex. aprenentatge i memòria), virtualment tots els processos fisiològics estan controlats o influenciats pel SN. La complexitat del SN contribueix a la seva vulnerabilitat als insults dels tòxics.

El SN està compost per una àmplia varietat de cèl.lules neuronals i gials. Les neurones poden ser classificades segons la seva localització anatòmica (p. ex. hipocampals, de l'estriat), el seu neurotransmissor principal (p. ex. colinèrgiques, dopaminèrgiques), estructura cel.lular (p. ex. granular, piramidal), o funció (p. ex. neuroendocrines, sensorials). S'han identificat tres classes de neuroglia al sistema nerviós central: astrocits, oligodendrocits i microglia. Les cèl.lules de Schwann són les principals cèl.lules gials del SNP. Les cèl.lules gials són les responsables d'un ampli ventall de funcions, que inclouen el suport i manteniment neuronal, la producció de mielina i la fagocitosi. La preservació de la relació normal entre neurones i glia és crítica pel manteniment de la funció normal del SN (Aschner, 2000a; Dorman, 2000). Els neurotòxics poden alterar aquesta relació danyant de manera selectiva o indiscriminada poblacions de cèl.lules. Una avaluació de la integritat de les neurones i la glia, és per tant crítica per determinar si un agent químic és neurotòxic.

Per altra banda, el SN té una taxa metabòlica molt alta, que és una altra característica que la fa sensible al dany dels tòxics. Aquesta taxa metabòlica és quasi exclusivament dependent del metabolisme aeròbic glucosa-dependent. Així, el SN és extremadament sensible als neurotòxics que afecten la funció mitocondrial i el metabolisme energètic. Un cop danyat el SN pot compensar-se funcionalment però aquesta potencialitat és limitada (Dorman, 2000).

El SN ofereix una diana única amb especials vulnerabilitats a agents tòxics. La seva intrincada organització aporta innumerables oportunitats pel trastorn, i la conducta reflexaria un "output" integrat del SN (Weiss i O'Donoghue, 1994).

La toxicologia del comportament és un camp emergent que està esdevenint molt important en l'avaluació del risc de l'exposició a substàncies neurotòxiques, degut a l'alta sensibilitat de la conducta cap a l'acció neurotòxica, i la integració en funcions

conductuals de varis processos subjacents i neurofuncions, com la motora, la sensorial, l'atencional i la motivacional (Lucchini i cols, 2000a).

Una fita principal de la neurotoxicologia moderna és identificar als agents neurotòxics abans de que es presenti l'exposició en humans. Per aquest fi, els estudis experimentals ben dissenyats, conduïts en animals de laboratori són crítics per l'estudi de la neurotoxicitat (Dorman, 2000) (*taula 1.1.*), tot i que en l'actualitat existeixen moltes substàncies mediambientals de les quals encara es desconeix el seu potencial neurotòxic.

Els anàlisis de la conducta, han i continuaran aportant, importants contribucions al coneixement dels efectes tòxics dels agents químics en general i dels efectes neurotòxics en particular (MacPhail, 1994).

Els canvis conductuals poden incloure retard en el desenvolupament de les cries, increment en l'activitat motora, disminució de la força a les extremitats, increment de les conductes d'escapament, i dèficits en l'aprenentatge cognitiu (Dobbing i Sands, 1971; Moorcraft, 1981; Gerber i O'Shaughnessy, 1986).



**Taula I.1. Nivells d'estudi en neurotoxicologia.**

<b>NIVELL D'ESTUDI</b>	<b>TIPUS DE DADES/USOS</b>
<i>→Neuropatologia</i>	
-Microscopi òptic	Identifica llocs vulnerables dins del SN o poblacions de cèl.lules susceptibles. Tincions especials aporten informació sobre la identitat, localització i quantitat de les macromol.lècules.
-Microscopi electrònic	Identifica llocs diana subcel.lulars de neurotoxicitat i una indicació de l'estat metabòlic del SN. Anàlisis de composicions elementals, immunocitoquímica especialitzada i tècniques autorradiogràfiques poden avaluar la distribució subcel.lular de certs xenobiòtics.
<i>→Neuroquímica</i>	
-Estudis de neurotransmissió, lligands i receptors	Avaluen els efectes de l'exposició a les substàncies químiques en els processos neuroquímics bàsics, i poden identificar els mecanismes de neurotoxicitat moleculars i bioquímics. Pot ser avaluat "in vivo" usant una gran varietat de tècniques, incloent microdiàlisi, tomografia per emissió de positrons i altres mètodes d'imatge moderns.
<i>→Electrofisiologia</i>	
-Electroencefalografia	Les tècniques electroencefalogràfiques permeten l'anàlisi funcional de poblacions de neurones. Usada per identificar focus epilèptics i altres condicions neurològiques. Avalua l'estat metabòlic del cervell en general.
-Potencials evocats	Avalua l'activitat funcional del SN a macro o microescala. Inclou les respostes auditives evocades del tronc del cervell, somatosensorials i potencials evocats en flash i patró revertit.
<i>→Conductual</i>	
-Funció cognitiva	Test d'aprenentatge associatiu i no associatiu. Cap test per si sol pot avaluar tots els tipus d'aprenentatge i memòria. Inclou l'evitació passiva i activa, conducta operant controlada i test d'aprenentatge espacial. Influenciat per la funció sensorial, l'arousal general, la motivació i l'activitat motora.
-Funció motora	Els neurotòxics afecten la funció motora via els nervis perifèrics o danyant el SNC. L'activitat motora és una conducta complexa que consisteix en una varietat d'actes motors.
-Funció sensorial	Avalua la integritat dels sistemes visual, auditiu, olfatori, gustatiu i somatosensorial.

#### **1.4. Neurotoxicologia del desenvolupament.**

La neurotoxicologia del desenvolupament ha esdevingut una subdisciplina important i enèrgica, focalitzant el seu camp d'estudi als períodes prenatal i postnatal. Els fetus i els nens són sovint més susceptibles als tòxics químics que alteren l'estructura i/o funció del cervell, tot i que la susceptibilitat varia per cada neurotòxic.

El cervell en desenvolupament és sovint més sensible als neurotòxics. És àmpliament acceptat que el grau de neurotoxicitat varia amb el període de desenvolupament, i pot ser particularment alt en les etapes primerenques d'aquest. Aquesta vulnerabilitat és conseqüència de les característiques dels processos cel·lulars i moleculars implicats en el cervell en desenvolupament. Algunes d'aquestes característiques serien:

- La lenta maduració -p.ex. mielinització, connexions sinàptiques-.
- La immaduresa dels sistemes de protecció -p.ex. la barrera hematoencefàlica-.
- L'especialització cel·lular -cada tipus de cèl·lula és produïda en un període diferent del desenvolupament, i per això és susceptible als tòxics en diferents moments del desenvolupament- (Claudio i cols, 2000).

Existeixen molts exemples a la literatura on alguns agents tòxics resulten en neurotoxicitat per les cries i no necessàriament per la mare. En altres casos, també s'ha trobat en animals d'experimentació que els adults són més susceptibles que els animals en desenvolupament (Paule i cols, 1986; St Omer i cols, 1991). També s'han proposat que les exposicions perinatals a alguns agents podria resultar en una toxicitat silenciosa (o latent), la qual es manifestaria amb l'edat o els canvis ambientals (Weiss, 1990). Per tant, hi ha una evidència creixent que l'exposició durant el desenvolupament a molts agents químics pot produir alteracions a llarg termini en la conducta i en el SN (MacPhail, 1994).

S'han utilitzat varis models animals per confirmar la neurotoxicitat en el desenvolupament que pot resultar de l'exposició a diferents agents tòxics – neurotòxics-. Raons ètiques impedeixen testar possibles agents neurotòxics, nous o ja

existents, en humans en desenvolupament. Per aquesta raó, els models animals han esdevingut un mètode comú per avaluar el seu potencial tòxic en el desenvolupament (Slikker, 1994).

## 2. Manganès (Mn).

### 2.1. Generalitats.

El manganès (Mn) és un metall comunament usat amb una àmplia varietat d'aplicacions industrials (Seth i Chandra, 1988). És un metall de transició amb acció fisiològica. Té una densitat de 7.21 g/cm<sup>3</sup>. Als 1260°C es produeix la seva fusió i als 1900°C la seva ebullició.

Els minerals més importants que contenen aquest metall són:

- la pirolusita (diòxid), que té un color negròs.
- la manganita (hidròxid), que té un color gris brillant.
- la psilomelana (òxid mixt de bari i Mn), amb un color negre brillant

(Corbella, 2000).

És un element relativament abundant a l'escorça terrestre (0.085%) que es troba normalment en forma d'òxids en varis tipus de roques (Ladron de Guevara i Moya, 1995). No té un gust o olor especial. El Mn pur seria un metall de color platejat, però no es troba al medi ambient en aquesta forma; més aviat, sempre es troba combinat amb altres elements com l'oxigen, el sulfur o el clorur. Aquestes formes, anomenades compostos, són sòlids que no s'evaporen, però petites partícules del material sòlid poden aparèixer suspeses a l'aire. També alguns compostos del Mn es poden dissoldre a l'aigua i, a baixos nivells, es troben presents normalment a llacs, rius i a l'oceà (Toxicological Profile for Manganese, ATSDR, 2000).

El Mn és un element essencial pels humans i altres espècies per la formació dels ossos, i pel metabolisme dels carbohidrats i lípids (Gerhardsson i Skerfving, 1996). El Mn ingerit normalment a la dieta podria protegir les cèl.lules i les neurones de l'estrès oxidatiu (Sziraki i cols, 1999).

## **2.2. Aplicacions del Mn a la indústria.**

El Mn és àmpliament usat en indústria. També s'ha usat com agent bactericida i com a fungicida. A la indústria s'utilitza en la producció d'acers. En forma metàl·lica es fa servir sobretot en aliatges de ferro i coure per construir hèlices de vaixell, i en la indústria armamentística per la seva resistència a la vibració, rascades i cops.

En forma d'òxids es fa servir en la fabricació de linòleums, piles seques i condensadors, indústria del vidre, ceràmica, fabricació de pintures, esmalts i laques, en la pirotècnia i en la indústria farmacèutica. També (en diferent forma química de les anteriors) com a pigment fosc.

Dins del grup de sals (en diferents formes) s'usa en tintoreria, com a secant empleat en l'adob de cuiros, fabricació de condensadors, secant de vernissos i com a pigment vermell.

Dels compostos orgànics s'utilitza el ciclopentadienil-manganès-tricarbonil i el metilciclopentadienil-manganès-tricarbonil (MMT) com a antidetonant de gasolines.

En l'agricultura, diferents compostos s'empren com a adobs i fungicides (Ladron de Guevara i Moya, 1995).

Així, els minerals de Mn, en les seves diferents formes i compostos, s'utilitzen principalment en la mineria i metal·lúrgia, i la indústria (Plunket, 1978).

## **2.3. El Mn al medi ambient.**

El Mn és àmpliament distribuït al medi ambient. Apareix al sòl, aire, aigua i aliments. Així, tots els humans estan exposats al Mn, el qual és un component natural del cos humà. La dieta és usualment la ruta més important d'exposició dels humans, sent la ingesta típica diària d'1 a 5 mg/dia.

Les exposicions al Mn per damunt de la mitjana són més probables que es donin en fàbriques, zones properes, o en deixalleries que alliberin quantitats significatives de pols de Mn a l'aire (Toxicological Profile for Manganese, ATSDR, 2000).

El límit d'exposició o concentració màxima permissibile de Mn i els seus compostos, segons els autors Dreisbach i Robertson (1988), en el seu llibre d'edició mexicana, són:

• pols	5 mg/m <sup>3</sup> en aire
• fums	1 mg/m <sup>3</sup>
• ciclopentadienil-manganès-tricarbonil	0.1 mg/m <sup>3</sup>
• metilciclopentadienil-manganès-tricarbonil	0.2 mg/m <sup>3</sup>

El ciclopentadienil-manganès-tricarbonil i el metilciclopentadienil-manganès-tricarbonil (MMT) s'utilitzen en alguns països com a additius antidetonants en la benzina. Aquestes substàncies són ràpidament absorbides per la pell (Dreisbach i Robertson, 1988). Ara com ara, s'afegeix com un augmentador de l'octanatge en la benzina sense plom als Estats Units i al Canadà. El Canadà és l'únic país del món que fa ús exclusiu del MMT com agent antidetonant en la benzina sense plom. Tot i que l'MMT està aparentment permès a l'Argentina, Austràlia, Rússia, i condicionalment a Nova Zelanda, no és ben conegut si en l'actualitat es fa servir habitualment en aquests països (Davis, 1998). La combustió del MMT provoca la formació d'òxids de Mn. Aquesta contaminació pot portar a un increment en les concentracions de Mn inorgànic a l'aire.

Per altra part, i menys important com a font d'exposició, existeix una droga “de carrer” anomenada “bazoka”, basada en la cocaïna però contaminada amb carbonat de Mn (Aschner i cols, 2001).

#### **2.4. El Mn en nutrició.**

El Mn és un element essencial requerit pels mamífers, aus, plantes i microorganismes per certes funcions fisiològiques (Seth i Chandra, 1988). La càrrega total en el cos està entre 12 i 20 mg per un home de 70 kg de referència. El seu balanç de Mn s'estimaria com segueix:

- Ingesta:
  - 3.7 mg/dia en menjar i líquids.
  - 0.002 mg/dia en aire.
- Pèrdues:
  - 0.03 mg/dia per orina.
  - 3.6 mg/dia per femta.
  - 0.039 mg/dia per la suor.
  - 0.002 mg/dia pel cabell i les ungles.

(Carson i cols, 1986).

### **2.5. Absorció, distribució i eliminació del Mn.**

Les vies fonamentals d'absorció són la respiratòria i la digestiva. L'absorció oral del Mn és lenta i incompleta, sobre l'1 i el 4 % (Carson i cols, 1986), ja que la solubilitat en els líquids intraluminals del tub digestiu és petita. Es produeixen interaccions entre el ferro (Fe) i el Mn. D'aquesta manera la carència del primer afavoreix l'absorció del segon. De fet, en les anèmies ferropèniques s'absorbeix significativament més Mn que en estats no carencials (Ladron de Guevara i Moya, 1995).

El Mn inhalat, en canvi, és ràpidament tòxic, indicant una absorció més ràpida a través del pulmó (Carson i cols, 1986). Aquesta via és la més freqüentment implicada en les intoxicacions industrials. El pulmó actua com a reservori de Mn, a partir del qual va penetrant a la circulació general (Ladron de Guevara i Moya, 1995).

El Mn és àmpliament distribuït entre els òrgans. Les concentracions més altes es donen a SNC, os, fetge i ronyó. S'acumula a l'interior de les cèl.lules, principalment als mitocondris (Carson i cols, 1986), el que fa que es distribueixi sobretot en els teixits especialment rics en mitocondris, i per tant amb índexs metabòlics més elevats (Ladron de Guevara i Moya, 1995). El Mn és transportat en el sèrum sanguini per la  $\beta$ -globulina. Les concentracions de Mn són 25 vegades més altes en les cèl.lules vermelles que al sèrum; tot i que no s'ha trobat una relació significativa entre l'exposició i les concentracions en sang de treballadors.

L'eliminació del Mn absorbit per via digestiva és pràcticament total a través de la bilis (Carson i cols, 1986). També s'elimina Mn a través de l'orina, via que pot potenciar-se mitjançant la utilització de quelants tipus EDTA. La melanina reté Mn (la substància negra és rica en melanina), el que afavoreix la seva eliminació en forma de grànuls de melanina pel cabell (Ladron de Guevara i Moya, 1995).

## **2.6. Dèficit de Mn.**

El Mn és requerit pel nostre organisme com a nutrient essencial. Tanmateix, no són freqüents els casos de deficiència d'aquest metall donat que a la nostra dieta és present en quantitat suficient. S'ha suggerit una relació entre el Mn i el metabolisme dels carbohidrats. Així, una deficiència de Mn a la dieta resulta en una producció anormal d'insulina i un empitjorament del metabolisme dels carbohidrats. En els individus adults, tant la deficiència de Mn, com l'excés, poden alterar els nivells de catecolamines, i es suggereix un lligam directe entre els nivells de Mn al cervell i el metabolisme i funció catecolaminèrgica (Seth i Chandra, 1988).

Durant l'última dècada s'han descrit varies malalties humanes caracteritzades en part per les baixes concentracions de Mn en sang. Aquestes malalties inclouen l'epilèpsia i l'osteoporosis. Resta per ser determinat si les baixes concentracions de Mn en sang observades en aquestes malalties són una causa o un efecte (Carl i cols, 1993; Keen, 1996).

Un dèficit de Mn a la dieta té relativament poc impacte en adults però pot afectar de manera severa al desenvolupament (Golub i cols, 1991). En quant als possibles efectes d'un dèficit de Mn durant el desenvolupament, s'ha descrit en animals d'experimentació, criats amb una dieta deficient en Mn, un retard en el creixement, anormalitats esquelètiques, disfunció reproductiva i alteracions a nivell del SNC.

Altres investigadors han observat en animals mantinguts amb una dieta deficient en manganès incoordinació, problemes d'orientació i altres dèficits conductuals com atàxia, dèficit d'equilibri, tremolors i marxa retrògrada. La suplementació amb Mn reverteix alguns d'aquests dèficits conductuals (Seth i Chandra, 1988).



Un dels principals efectes del dèficit prenatal del Mn és a l'esquelet. En rates, la descendència de la mare alimentada amb una dieta deficient en Mn ( $< 1 \mu\text{g Mn/g}$  comparat amb la dieta típica control de  $10\text{-}50 \mu\text{g Mn/g}$ ) des del deslletament, mostren un creixement desproporcionat al naixement que es caracteritza per l'escurçament sever dels radis, ulna (cúbit), tibia i fibula (peroné).

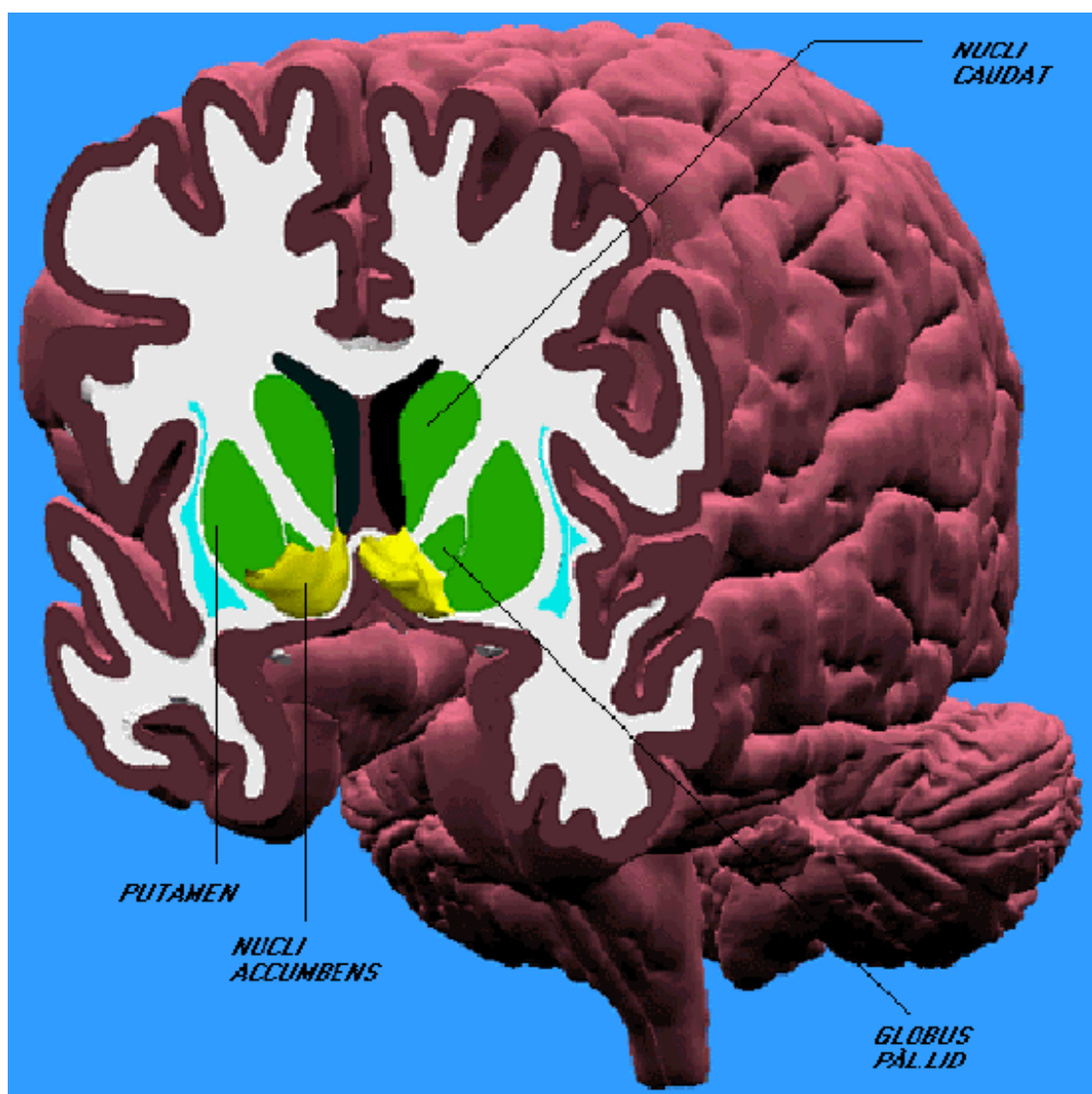
Un efecte espectacular de la deficiència de Mn pot ser l'atàxia congènita irreversible, la qual es caracteritza per una pèrdua de l'equilibri i retracció del cap. Aquesta atàxia és deguda a una anormal desenvolupament dels otolits a l'orella interna. El teixit pancreàtic també pot resultar afectat acusadament (Keen, 1996).

Altres estudis en animals d'experimentació mostren que l'alimentació amb concentracions de Mn molt baixes, afecta el creixement i el metabolisme, fet que s'ha relacionat amb dèficits de les hormones tiroïdals de les cries de les mares exposades a aquesta dieta (Eder i cols, 1996).

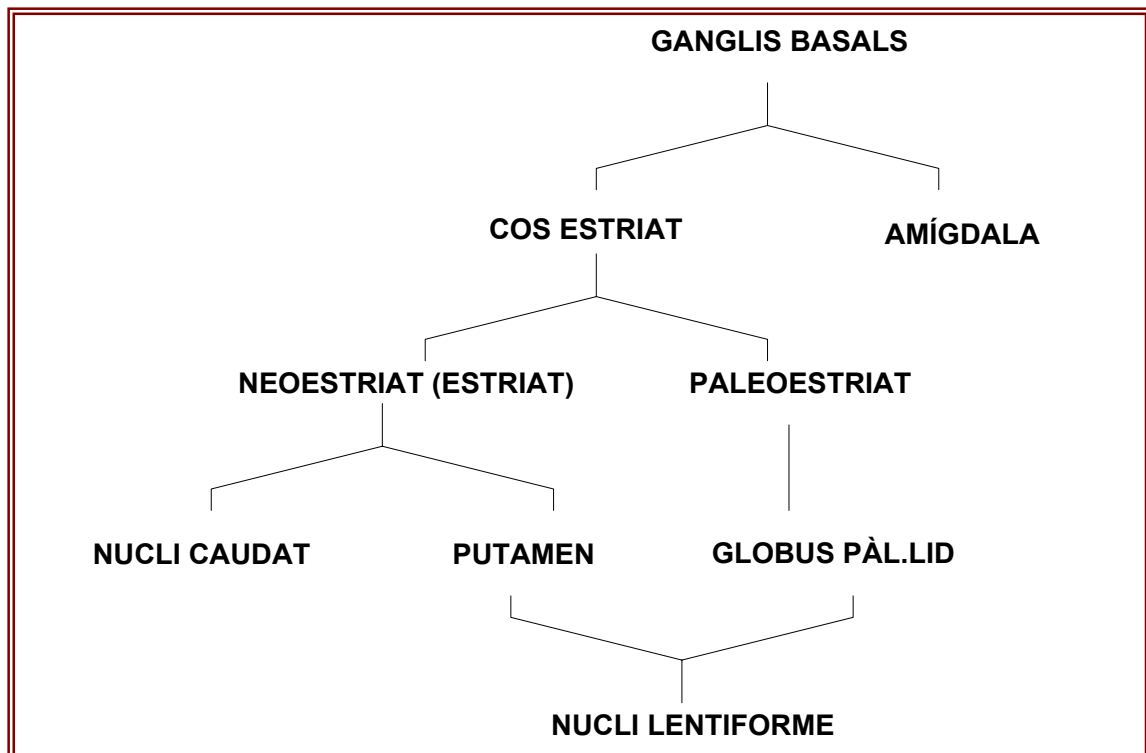
## **2.7. Toxicologia del Mn: excés.**

El Mn, com altres elements essencials, ha de mantenir-se entre uns certs límits de concentració per un funcionament òptim (Mergler, 1999). L'exposició excessiva a Mn està associada amb una malaltia del cervell irreversible anomenada "manganisme", amb alteracions prominentment psicològiques i neurològiques, caracteritzada en el seu inici per una alteració psiquiàtrica ("bogeria mangànica") que recordaria força a l'esquizofrènia (Aschner i cols, 2001). Mentre que la malaltia inicial pot ser reversible, el manganisme més avançat persistiria, essent irreversible (Frumkin i Solomon, 1997).

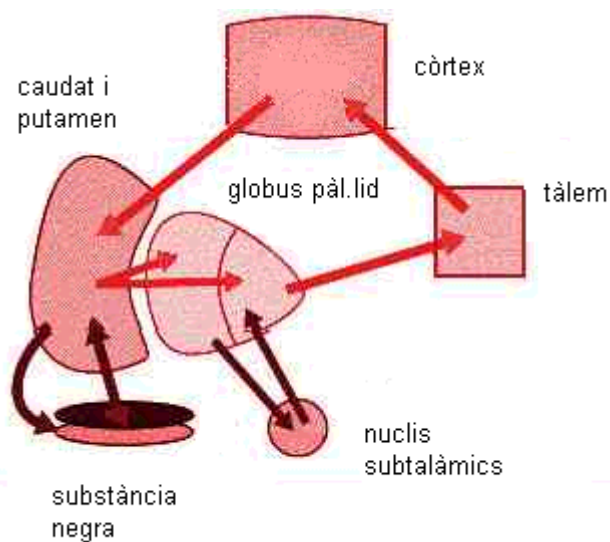
El SNC és el principal teixit diana del Mn. El manganisme està associat a uns nivells de Mn cerebrals alts, principalment en aquelles àrees conegudes per contenir altes concentracions de ferro, que inclouen el caudat-putamen (nucli estriat), globus pàllid, substància negra i nuclis subtalàmics (*figures I.2, I.3 i I.4*). Recentment, les Imatges per Ressonància Magnètica (IRM) mostren que existeix una disminució de la circulació sanguínia regional cerebral en el caudat i tàlem (Aschner i Kimelberg, 1996; Aschner i cols, 2001).



*Figura I.2.* Ganglis basals (Atlas d'Anatomia, University of Washington, 1998)



*Figura I.3.* Nomenclatura dels ganglis basals (Crossman i Neary, 2000).



*Figura I.4.* Dibuix esquemàtic de les relacions entre les principals estructures afectades per la intoxicació de Mn (Cardoso, 1997).

L'exposició a nivells alts de Mn estan associats amb alteracions neurològiques i neuropsiquiàtriques (Mergler, 1999).

A la 15<sup>a</sup> Conferència Internacional de Neurotoxicologia (1999), es va considerar el risc per la salut de l'exposició a Mn en el marc ocupacional i ambiental. La introducció d'un compost organomanganèsic com augmentador del grau d'octanatge a la benzina, ha estimulat la revisió de la seva possible toxicitat (Verity, 1999), ja que fins ara existeixen relativament poques descripcions de la toxicitat del Mn a partir d'aigua o de la dieta (Aschner i cols, 2001). Tanmateix, hi ha evidències de que l'ús del MMT a la gasolina incrementarà els nivells de Mn ambientals, augmentant la seva bioabilitat (Frumkin i Solomon, 1997).

Els signes neurològics causats per excés de Mn en el medi ambient han rebut una gran atenció degut a que s'assemblen a alteracions clíniques descrites col·lectivament com una disfunció del sistema motor extrapiramidal, i en particular a la Malaltia de Parkinson (MP) amb distònia (Aschner, 2000b). Mena (1979), va estar entre els primers en reconèixer les similituds entre els signes i símptomes del manganisme i la MP.

Un principi central de la neurotoxicitat del Mn està relacionat amb el rol selectiu que juga la disfunció de les neurones dopaminèrgiques (Verity, 1999), tot i que els mecanismes pels quals el Mn produeix neurotoxicitat no estan clars (McMillan, 1999).

### **2.7.1. Toxicologia del Mn en humans.**

Al segle XIX alguns autors van observar que la pols de Mn produïa un síndrome neurològic en treballadors exposats. Tot i que degut a la millora de la higiene industrial, el manganisme clàssic és rarament vist en miners i treballadors en les societats desenvolupades, les noves aplicacions del Mn, com additiu a la benzina, fa el problema emergent altra vegada (McMillan, 1999). La combustió del MMT incrementarà els nivells inorgànics de Mn ambiental i incrementarà l'exposició de Mn en humans (Aposhian i cols, 1999).

L'MMT, com en el cas dels derivats del plom, és emès des dels tubs d'escapament i dispersat a l'atmosfera. L'exposició a la població té lloc principalment per inhalació de les partícules a l'aire de l'ambient, i secundàriament per la ingestió d'aquestes partícules dipositades al menjar, al sòl i altres superfícies amb que la població en la seva totalitat o subpoblacions entren en contacte (Davis, 1998).

Al contrari que el Mn ingerit, el Mn inhalat és transportat directament del tracte respiratori al cervell abans del seu pas pel fetge (Frumkin i Solomon, 1997; Davis, 1998), i per tant, dosis més baixes de Mn inhalat serien igual o més tòxiques que dosis més elevades de Mn ingerit.

La via d'exposició pot influenciar la distribució, el metabolisme i la neurotoxicitat del Mn. La via oral és considerada la menys importat per als propòsits d'avaluació de risc, ja que el Mn és pobrament absorbit des del tracte gastrointestinal (absorció neta < 5%) i els nivells de Mn es mantenen relativament constants al cervell i altres teixits. En contrast, la inhalació és més eficient que la ingestió, aportant Mn al cervell (Aschner i cols, 2001). L'eliminació del Mn del SNC és lenta (Newland, 1999). El fetge juga un rol clau mantenint les concentracions normals de Mn a l'organisme. El Mn absorbit des del tracte gastrointestinal és portat primer cap al fetge, no arribant gairebé a la circulació sanguínia (Aschner i cols, 2001).

El Mn produeix una toxicitat retardada i acumulativa (Newland, 1999). Aquest mecanisme d'acció acumulatiu del Mn s'ha de tenir molt en compte a l'hora de fixar el nivell d'exposició segur (Lucchini i cols, 1999), per cada via.

Tot i que l'ús de l'MMT resultaria en només un petit increment en l'exposició a Mn per la majoria de la població, certes poblacions estarien desproporcionadament exposades. Subpoblacions susceptibles com nens, dones embarassades, persones grans, individus deficientes en ferro (Fe) i calci (Ca), i individus amb problemes hepàtics (Davis, 1998), tindrien un potencial increment per una càrrega excessiva de Mn al cos atribuïble a un increment de l'absorció o una alteració dels mecanismes d'eliminació com s'ha suggerit, segons dades limitades. Causes d'aquesta susceptibilitat en les diferents poblacions serien:

- En lactants, perquè el Mn es transmet a través de la placenta i per la llet materna.
- Nens, pel seu metabolisme particular i perquè el seu sistema nerviós està en desenvolupament.
- Les dones embarassades i també mares que esta alletant, degut a dèficit de ferro i dèficit de calci.
- Gent gran. Són una població preocupant, tenint en compte que una substancial proporció d'aquests desenvolupa la MP idiopàtica, i per tant, és possible que altres tinguin una tendència subclínica per la disfunció en el globus pà.lid, substància negra i nucli estriat. Aquest subgrup de gent pot ser posat "al límit" incrementant l'exposició a Mn.
- Individus amb malaltia neurològica preexistent, els quals serien d'especial risc degut al potencial de la combinació.
- Persones amb deficiència de ferro, perquè l'absorció gastrointestinal de Mn és augmentada per aquesta deficiència (Frumkin i Solomon, 1997); i també amb dèficit de calci.

La intoxicació per Mn pot donar-se per exposicions agudes o de curta durada o per exposicions cròniques o de llarga durada, que donarien lloc al manganisme.

S'han fet estudis en poblacions exposades a importants nivells de Mn en aigua i aire, estudiant varis tòxics en general a més del Mn (p.ex. Mergler i cols, 1998), en àrees concretes amb resultats poc concloents (p.ex. Vieregge i cols, 1995; Santos-Burgoa i cols, 2001).

Els mecanismes precisos de la neurotoxicitat del Mn no són ben coneguts, tot i que sembla que el Mn pot afectar varis aspectes de l'estructura i funció del SNC en els humans (Davis, 1998).

La literatura científica suggereix el lligam de varis neurotransmissors en la toxicitat del Mn. S'ha vist que altera el nivells de varis neurotransmissors i l'activitat d'alguns dels enzims involucrats en el metabolisme dels neurotransmissors, a més de modificar la sensibilitat d' alguns receptors.

El dany a les neurones catecolaminèrgiques podria ser causat pels radicals lliures i quinoides formats com a resultat de l'autoxidació de la dopamina (Da) catalitzada

pel Mn. El sistema dopaminèrgic apareix com el més sensible al Mn, i aquest sembla que juga un paper significatiu en el desenvolupament normal de les funcions dopaminèrgiques (Seth i Chandra, 1988). La toxicitat del Mn podria estar relacionada amb la seva habilitat per accelerar l'oxidació de les catecolamines (Lloyd, 1995). El Mn s'acumula dins la mitocondria preferentment, via calci, i està associat amb una inhibició de la fosforilació oxidativa (Verity, 1999).

Algunes troballes postmortem, tant en humans com en animals, han revelat una degeneració neuronal al cos estriat (nucli caudat, putamen i globus pà.lid), així com en neurones dopaminèrgiques de la substància negra (Cuesta de Di Zio i cols, 1995), mentre que altres autors només parlen d'atròfia i disminució de les cè.l.lules del globus pà.lid (Dreisbach i Robertson, 1988).

#### **2.7.1.1. En el desenvolupament.**

Històricament, les exposicions severes a Mn havien estat restringides als treballadors adults del sexe masculí en les indústries basades en aquest metall. La possibilitat de que un excés d'exposició al Mn pugui donar-se a prop d'algunes refineries, o fins i tot en l'ambient general, podria significar que la toxicitat del manganès sigui un seriós perill per la salut de les dones i nens que visquin en ambients altament exposats (Corbella i Domingo, 1996).

Generalment, la majoria dels estudis s'han centrat en subjectes adults, enlloc de en població general. Els treballadors adults de sexe masculí no poden ser considerats òbviament representatius de grups com persones grans, nens, dones embarassades i altres poblacions susceptibles com ara els malalts hepàtics i amb dèficit de ferro (Davis i Elias, 1996; Davis, 1999).

Tot i que hi ha estudis que suggereixen que el Mn és requerit en grans quantitats durant la infància, i que un subministrament de Mn suficient és crític per un desenvolupament normal del cervell (Takeda i cols, 1999), els nens serien una de les subpoblacions més susceptibles als efectes tòxics del Mn. El SN dels nens està en desenvolupament, els seus sistemes de neurotransmissió són immadurs i això comporta una certa vulnerabilitat afegida (Seth i Chandra, 1988).

Es considera que aquest és un període especialment susceptible a un ampli rang d'exposicions tòxiques (Frumkin i Solomon, 1997). Els animals molt joves no només absorbeixen i retenen Mn de manera excepcional. També han mostrat una acumulació relativa més gran del Mn al SNC. S'ha vist que els nadons alimentats amb fórmules que contenen Mn, tenen nivells més alts d'aquest element al cabell que els nadons alletats per la mare, i els nens hiperactius tenen nivells de Mn més alts al cabell que els controls (Frumkin i Solomon, 1997).

Els nens formarien també part d'una de les dues subpoblacions més exposades, juntament amb treballadors exposats ocupacionalment, si aquest metall, degut sobretot a l'ús de l'MMT a la gasolina, es troba a l'ambient, per varies raons:

1. Presenten una taxa respiratòria més alta.
2. L'absorció gastrointestinal és superior en els nens que en els adults.
3. A través de les estones de joc a l'exterior a prop d'àrees amb alt nivell de trànsit de vehicles, estarien altament exposats per l'aire i pel sòl (Frumkin i Solomon, 1997).

El Mn travessa la barrera hematoencefàlica tant dels neonats com del fetus en desenvolupament (Aschner, 2000b).

Existeix un nombre limitat d'estudis adreçats a investigar els dèficits neurològics de l'exposició a Mn en nens (Aschner, 2000b). Tanmateix, està força acceptat que l'exposició a Mn durant un període limitat del desenvolupament primerenc podria ser capaç d'induir danys permanents o irreversibles al SNC en desenvolupament (Davis, 1998).

La competició entre el Fe i el Mn pel mateix sistema de transport, comporta unes importants implicacions pel potencial increment de l'acumulació de Mn al SNC en poblacions ferodeficients. Degut a que ambdós, Mn i Fe, comparteixen similituds en la seva química i bioquímica, és raonable postular que els mecanismes subjacents a la distribució del Mn, en la salut i en la malaltia, i en els individus en desenvolupament són dependents de l'homeostasi del Fe (Aschner, 2000b). No s'han portat a terme estudis a llarg termini de nens exposats a Mn (Davis i Elias, 1996).

Es sap que l'exposició a certs metalls, com per exemple el plom, té efectes neurotòxics sobretot durant certs "estadis crítics" del desenvolupament humà. Per tant, aquestes evidències, augmenten la probabilitat de que l'exposició a Mn durant



---

un període limitat en el desenvolupament primerenc, sigui capaç d'induir danys permanents o irreversibles al SNC en desenvolupament. Els nens, a més, tindrien un risc afegit per les seves característiques metabòliques i, a la llarga, per la possible acumulació dels efectes tòxics durant els anys que condueixen a l'adulthood i vellesa, si segueix l'exposició (Davis i cols, 1998).

La potencial toxicitat en el desenvolupament deguda a l'exposició prenatal del Mn, sembla força provada, tot i que les concentracions mínimes i la durada de l'exposició suficients per induir els efectes adversos no estan ben definides (Davis, 1998; Davis, 1999).

### **2.7.1.2. En adults.**

La neurotoxicologia del Mn es coneix des de fa més de 150 anys. Des de llavors, el síndrome tòxic ha estat descrit en varis grups de miners i altres treballadors altament exposats (Iregren, 1999). S'han descrit també casos d'intoxicació per Mn en famílies exposades a altes dosis d'aquest metall a través d'aigua contaminada, així com en pacients amb malaltia hepàtica, i en nens que rebien nutrició parenteral per un període perllongat (Calabresi i cols, 2001).

Els efectes tòxics de l'exposició a Mn en el SNC un cop establerts són irreversibles. D'aquí la importància que té la detecció primerenca dels primers símptomes i signes de neurotoxicitat en poblacions de risc (Iregren, 1999).

Dels miners exposats a pols de Mn, només una petita proporció desenvolupa el "manganisme", el que fa pensar que existeixen diferències individuals en quant a vulnerabilitat.

El Mn és absorbit per l'intestí, així com a través de l'epiteli alveolar pulmonar. Un cop a la circulació sistèmica fàcilment entra al cervell (Kopin, 1994). A concentracions normals en plasma, el Mn entra al SNC principalment travessant la barrera hemato-encefàlica pels capil·lars de l'endotel·li, mentre que a altes concentracions predominaria el transport a través del plexe coroide (Zheng, 1996; Aschner i cols, 2001).

Segons alguns investigadors (Calabresi i cols, 2001), els símptomes conductuals descriurien una fase clínica primerenca del manganisme causada per un control inhibitori dopaminèrgic anormal en els inputs cortico-estriats.

El curs clínic del manganisme, descrit en centenars de casos d'intoxicació per miners, treballadors de la indústria i agricultura, pot ser dividit en 3 fases:

- 1- Una fase inicial on predominen els símptomes subjectius, on poden succeir episodis psicòtics. Aquesta fase acostuma a durar varis mesos.
- 2- Una fase intermitja on predominen els símptomes neurològics. Aquesta fase també pot durar varis mesos.
- 3- Una fase establerta amb dèficits neurològics persistents, dèficits que poden persistir i progressar encara que l'exposició a Mn cessi (Chang, 1996b; Mergler i Baldwin, 1997; McMillan, 1999).

Alguns estudis indiquen que la progressió clínica en aquests pacients continua fins i tot 10 anys després d'acabar-se l'exposició (*taula I.5*) (Seth i Chandra, 1988; Huang i cols, 1998).

**Taula I.5. Alguns signes i símptomes neurològics del manganès en humans.**

FASE DE LA MALALTIA	ALTERACIONS NEUROLÒGIQUES SIGNIFICATIVES
1. Fase prodròmica	Apatia, astènia, anorèxia, insomni, dolors musculars, excitament mental, al.lucinacions, riure incontrolat, memòria empitjorada, accions compulsives, excitament sexual seguit d'impotència.
2. Fase intermèdia	Alteracions de la parla, moviments irregulars ("patosos"), marxa anormal, balanceig alterat, reflexes exagerats en les extremitats inferiors, falta d'expressió a la cara, tremolors.
3. Fase establerta	Rigidesa muscular a les extremitats, marxa anomenada "de gall" (aixecant els talons), tremolors, riure espasmòdic, sudoració excessiva.

La clínica més característica és la “marxa de gall”. Aquesta dificultat en el caminar pot ser unilateral, però usualment és bilateral i es considera una forma de distònia. Generalment, esdevé prominent després de caminar una distància curta i representa una manifestació severa del manganisme crònic (*figura I.6*) (Huang i cols, 1997).

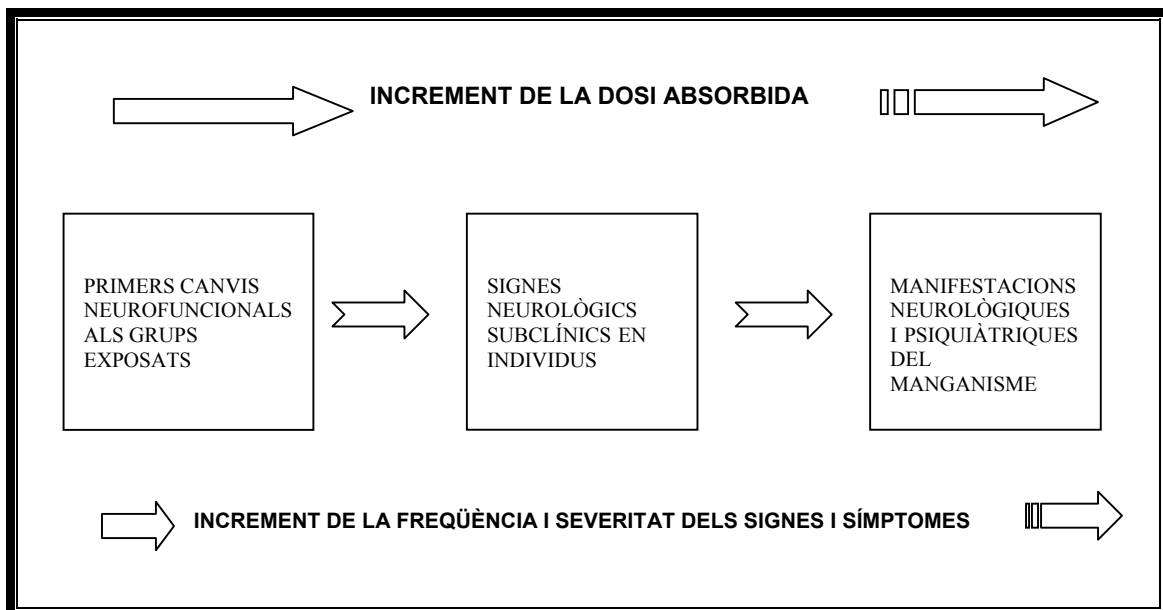


*Figura I.6. “Cock gait” o  
“Marxa de gall”  
(Inoue i Makita, 1996)*

En els estudis ocupacionals s’han utilitzat diverses proves i bateries d’estudi neuropsicològic que han aportat resultats valuosos i força coherents respecte a la neurotoxicitat del Mn. Així, s’han pogut detectar tant alteracions motores com cognitives (Iregren, 1999).

Alguns autors indiquen que la toxicitat del Mn podria no ser clínicament evident fins alguns anys després de l'exposició (Davis i cols, 1998). Tanmateix, altres autors (Mergler i Baldwin, 1997) afirmen que és possible detectar els primers signes de disfunció neurotòxica associada a l'exposició a Mn tant ocupacional com ambiental (*figura I.7*).

**Figura I.7. Progressió dels canvis neurofuncionals associats a l'exposició a manganès.**



Degut a l'interès per conèixer la toxicitat a baixos nivells d'exposició a Mn, varis grups d'investigadors (Siegl i Bergert, 1982; Roels i cols, 1987; Iregren, 1990; Huan i Huang, 1991; Wennberg i cols, 1991; Roels i cols, 1992; Mergler i cols, 1994; Lucchini i cols, 1995; Sjögren i cols, 1996) han fet servir tests neuroconductuals sensibles per estudiar treballadors exposats a baixos nivells de Mn, aparentment lliures de malaltia. Existeix una bona consistència en els resultats. L'activitat motora i la memòria estarien afectades per l'exposició a nivells prou baixos com per no causar toxicitat clínicament evident. L'alteració més consistent trobada en els estudis va ser una funció empitjorada en les tasques que requerien moviments coordinats, seqüencials o alternats a una velocitat ràpida. Aquests signes sembla que liderarien el principi de la toxicitat del sistema piramidal. Iregren (1994) va suggerir que l'habilitat per repetir moviments simples podria ser particularment

---

sensible a l'exposició a Mn, i concloure que els efectes del Mn sobre el SNC serien principalment una interferència en la iniciació del moviment. Altres autors (Barrington i cols, 1998) han fet servir proves de personalitat per valorar la neurotoxicitat del Mn però sense resultats conclouents.

Per altra banda, sembla que existeixen diferències entre sexes en quant a la vulnerabilitat pels efectes tòxics del Mn, essent els homes els més sensibles (Mergler i cols, 1999). En quant a la funció reproductiva es veu afectada en homes (impotència, pèrdua de la líbido, disminució de la fertilitat), però no ha estat prou investigada en dones (Frumkin i Solomon, 1997; Davis i cols, 1998; Davis, 1999; Toxicological Profiles of Manganese, ATSDR, 2000).

Algunes investigacions han suggerit també l'associació d'una conducta agressiva amb l'exposició a Mn (Gottschalk i cols, 1991).

A part de les proves neurològiques i neuropsicològiques, s'ha intentat buscar marcadors/biomarcadors que puguin permetre valorar l'exposició a Mn i la possible afectació (p.ex. Manzo i cols, 2001). Fins i tot, s'ha parlat de la mesura de l'esmalt dental per valorar l'exposició a Mn (Ericson i cols, 2001), a més del típic índex dels nivells en sang (Lucchini i cols, 2000b). Les baixes concentracions de Mn a la sang no poden ser garantia d'absència de nivells significatius a SN. Els nivells fecals, reflecteixen primàriament el Mn no absorbit de la dieta; així que no pot ser un marcador de la càrrega al cos. La sang, la femta i l'orina no reflecteixen les concentracions de Mn al SNC, mentre que el cabell no ha estat validat com a biomarcador (Newland, 1999).

Característic del Mn és el dany al globus pà.lid. Aquesta regió conté neurones dopaminèrgiques i receptors de dopamina (Da) (Verity, 1999). D'aquí que s'hagi començat a utilitzar també com a indicador d'exposició al Mn el que s'ha arribat a anomenar fins i tot "Índex del pà.lid", que és la visualització per IRM de l'acumulació de Mn al globus pà.lid i/o als ganglis basals en general (Butterworth i cols, 1995; Misselwitz i cols, 1995; Pal i cols, 1999; Lucchini i cols, 2000b).

### 2.7.1.2.1. Mn i Malaltia de Parkinson (MP).

Alguns investigadors (Landrigan i cols, 1993) parlen de que les exposicions a altes dosis de Mn poden produir MP, però tot i que hi ha un interès en la possible exposició a pesticides i a altres toxines com a causants de malalties neurodegeneratives en humans (Giasson i Lee, 2000), i que en alguns casos de MP s'ha trobat concentracions elevades en sang de Mn (Durán i Chacón, 2001), cal distingir clarament la MP idiopàtica, de la típica malaltia neurotòxica produïda pel Mn o “manganisme”. A diferència de la MP, el manganisme també produeix distònia, un signe neurològic associat amb el dany al globus pàllid (Calne i cols, 1994; Aschner i cols, 2001) (*figura I.8*).



*Figura I.8.* Postura distònica en la marxa (Inoue i Makita, 1996).

En el manganisme, a diferència de la MP, s'acostuma a trobar:

- 1- Un tremolor en repòs menys freqüent.
- 2- Distònia més freqüent.
- 3- Una propensió particular a caure cap enrera.
- 4- Fracàs per arribar a una resposta terapèutica mantinguda a la levodopa.
- 5- Fracàs en detectar una reducció de la captació de la fludopa mitjançant PET (Tomografia per Emissió de Positrons).
- 6- Preservació del circuit dopaminèrgic nigro-estriat (Aschner i cols, 2001).

Així, la MP, el parkinsonisme vascular, el parkinsonisme postencefàlic i el parkinsonisme tòxic han d'ésser diferenciats. Els símptomes desenvolupats en l'enverinament o toxicitat per Mn freqüentment són bastant semblants als de la MP, però l'avaluació neurològica detallada revelarà la diferent simptomatologia en la toxicitat del Mn (Inoue i Makita, 1996).

### **2.7.2. Toxicologia del Mn en animals d'experimentació: efectes sobre el comportament.**

Els estudis de neurotoxicitat del Mn conduïts en poblacions humanes, tenen avantatges perquè es duen a terme en la població que realment preocupa, però també comporten moltes desavantatges encara i quan els protocols siguin sofisticats. En els estudis epidemiològics, les relacions causa-efecte o dosi-efecte no poden ser identificades. El control experimental sobre l'exposició és requerit per identificar clarament relacions entre la dosi i l'efecte del Mn.

La neurotoxicitat del Mn s'associa amb la seva aparició en estructures dels ganglis basals, especialment al globus pàllid. El Mn també apareix a la glàndula pituïtària, tot i que les conseqüències funcionals no es coneixen (Newland, 1999), encara que alguns autors destaquen la falta d'acord existent sobre les àrees específiques del cervell en les que el Mn es concentra (Fechter, 1999).

En rosegadors, l'acumulació de Mn s'ha relacionat amb les alteracions en la funció i concentració dels neurotransmissors (Newland, 1999). Les dades

experimentals d'animals i humans indiquen que el Mn té efectes neurotòxics, alterant el sistema dopaminèrgic (St-Pierre i cols, 2001). Tanmateix, les investigacions dels efectes conductuals en aquestes espècies, les quals acostumen a relacionar l'activitat motora, han esdevingut en resultats menys consistents.

El NOAEL (No-Observed-Adverse-Effects-Level, o Nivell on no s'observen efectes adversos) no ha estat identificat amb el Mn amb estudis animals (Newland, 1999).

Els estudis en rosegadors i primats donen resultats diferents. Tot i que els rosegadors han mostrat alteracions neuroquímiques després d'exposició a Mn per ruta inhalada i no inhalada, mostren menys efectes conductuals als mateixos nivells d'exposició. S'ha suggerit que les diferències en la probabilitat d'exhibir alteracions conductuals entre primats i rosegadors podrien estar relacionades amb que els rosegadors no tenen pigmentada la substància negra, a diferència dels primats i també dels humans (Davis, 1998). La substància negra és una regió del cervell amb una captació de Mn relativament alta, degut segurament a la seva elevada concentració de melanina.

La pèrdua de neurones i gliosis al globus pàllid són el segell del manganisme en humans i del manganisme experimental en primats (Verity, 1999). Els rosegadors, mostrarien alteracions neuroquímiques després d'exposició a Mn, tot i que està en qüestió la seva sensibilitat per la valoració conductual (Davis, 1999). El tema de si la rata és indicada com a model de toxicologia comportamental del Mn es manté obert. Altres espècies que també s'han considerat per l'estudi de la toxicologia del Mn són ratolins, micos i, de vegades, coloms.

Els efectes conductuals dels productes químics en ratolins han estat bastant descrits, tot i que no tant com en rates, ni existeixen masses dades dels efectes tòxics del Mn en ratolins. Però, donat el relatiu petit cost de treballar amb ratolins, segons McMillan (1999) haurien de ser considerats per estudis de toxicitat conductual del Mn. Els ratolins i les rates podrien ser ambdós models vàlids per testar neurotoxicitat, tot i que existeixen diferències entre ells. D'aquí la importància d'avaluar la toxicitat en ambdós espècies. Per exemple, alguns investigadors (Henry-



Sam i Iszard, 2001) han trobat que els ratolins són més sensibles que les rates als efectes del Mn sobre la reproducció.

### **2.7.2.1. En el desenvolupament.**

En els últims anys, s'han incrementat els estudis de la toxicitat prenatal del Mn en animals de laboratori, degut a la preocupació creixent envers la toxicitat d'aquest metall i la coneguda vulnerabilitat dels fetus, neonats i individus en desenvolupament a l'efecte dels tòxics, i sobretot, degut a la sensibilitat incrementada del SNC durant el seu desenvolupament. Només uns quants experiments han examinat els efectes de l'exposició prenatal i perinatal al Mn. Les dades són controvertides, i els estudis conductuals escassos i poc informatius (Pappas i cols, 1997; Pappas, 2000).

S'ha demostrat, en rosegadors, que el Mn pot travessar la barrera hematoencefàlica, acumular-se al fetus, i causar toxicitat materna i del desenvolupament (Sánchez i cols, 1993; Aschner i Gannon, 1994; Colomina i cols, 1996b). Segons alguns autors (Grant i Ege, 1995), el Mn és clarament teratogènic per la rata quan s'administra de manera repetida per via intravenosa durant l'organogènesi (del dia 6 al 15 de gestació), però no s'han trobat el mateixos efectes quan és administrat de manera oral a dosis molt altes, probablement degut a la limitada absorció gastrointestinal del Mn, i el seu altament eficient primer pas de recaptació pel fetge, reduint així la biodisponibilitat al fetus. Els efectes adversos descrits van ser anormalitats esquelètiques, concretament irregularitats a les costelles (Grant i Ege, 1995; Grant i Hustvedt, 1998).

Existeix una àmplia evidència que indica que els neonats són més susceptibles que els adults a molts neurotòxics. Les rates neonatals tindrien un risc incrementat per la toxicitat induïda pel Mn degut a la seva habilitat per acumular Mn al cervell (Aschner i cols, 2001). El resultat d'aquestes altes concentracions de Mn al cervell podrien tenir importants conseqüències funcionals. S'ha demostrat una activitat motora neonatal deprimida seguida d'una exposició prenatal a Mn per inhalació (Corbella i Domingo, 1996).

També s'ha demostrat en animals de laboratori, ratolins en aquest cas, que l'exposició a Mn (oral) pot causar una disminució en les taxes d'embaràs i altres paràmetres reproductius com la mitjana del pes dels fetus i el nombre de fetus per ventrada (Iszard i cols, 2001), així com un retard en el reflex d'adreçament o "righting reflex" de les cries de mares exposades (Ali i cols, 1983). L'administració de Mn postnatal a ratolins, alletats per mares exposades a partir del segon dia de vida, mostraven un increment de l'activitat motora mesurada als dies postnatsals 60 i 90 (Lown i cols, 1984). També s'ha vist en rates exposades prenatalment a Mn una disminució de les concentracions de Da i de l'activitat de la tirosin-hidroxilasa i un increment de l'activitat de la MAO (Mono-Amino-Oxidassa) a l'hipotàlem (Mailman i cols, 1996).

Altres investigadors han observat en rates exposades a Mn des de la concepció fins el dia 30 postnatal, els nivells de monoamines al cervell i l'activitat de la colin-acetiltransferasa afectats, tot i que no s'han pogut replicar aquests resultats (Pappas i cols, 1997; Pappas, 2000). En aquests estudis es van observar anormalitats físiques però, es va trobar una disminució del gruix del còrtex i una marcada hiperactivitat al dia 17 postnatal, explicats per la possible hipofunció dopaminèrgica.

Així, ha estat descrit (Davis i cols, 1998) que l'exposició prenatal a Mn en rosegadors podria deprimir l'activitat neuroconductual en animals neonats, amb una possible intensificació d'aquesta depressió si es continua amb una exposició postnatal de les cries. S'ha demostrat que hi ha alteracions en els nivells de Da en rates i ratolins exposats a Mn durant el desenvolupament postnatal primerenc per diferents vies d'exposició (Davis i cols, 1998; Dorman i cols, 2000). Es pot afirmar que la majoria dels experiments suggereixen que els neonats es trobarien amb un risc incrementat a la neurotoxicitat induïda pel Mn comparat amb subjectes adults, tot i que els mecanismes de neurotoxicitat i els efectes concrets no estan tan clars.

#### **2.7.2.2. En adults.**

El sistema respiratori no regula l'input de Mn, i d'aquesta manera el Mn pot acumular-se; al contrari que a la dieta, en que més alts nivells de Mn poden ser regulats de manera eficient (Newland, 1999). Quan el Mn s'administra a l'aigua de beguda les dosis acumulatives en les quals els efectes adversos poden aparèixer estan

---

entre 1000 i 5000 mg/kg, amb un estudi que arriba fins a 27.000 mg/kg (Newland, 1999).

S'ha vist en rates, que la ruta olfactiva seria una via significativa per la qual el Mn guanyaria accés al cervell. Alguns estudis conclouen que les neurones olfactives, mitjançant el transport axonal retrògrad, oferirien un camí amb considerable capacitat per transportar Mn al cervell (Henriksson i cols, 1999), i que el bulb olfactiv de la rata acumularia més que altres regions cerebrals d'inhalació (Vitarella i cols, 2000). La rellevància d'aquestes troballes respecte l'exposició inhalada humana i els riscos per la neurotoxicitat no és coneguda, i és complicada per les diferències interespecies en l'anatomia i fisiologia nasal i cerebral. El bulb olfactiv i la mucosa nasal olfactiva serien estructures proporcionalment més petites en humans, suggerint que aquesta ruta d'accés al cervell seria menys important en humans comparat amb les rates (Aschner i cols, 2001).

Segons alguns experiments el plexe coroide sembla filtrar el Mn (administrat intraperitonealment), cap al líquid cefalorraquidi (LCR) i SNC, a dosis altes de Mn però no sembla fer el camí invers i sortir del SNC (Aposhian, 1999). Hi ha variables que augmenten l'absorció de Mn al cervell, com la deficiència de Ca, la deficiència de Fe, la malnutrició proteica, etc. (Seth i Chandra, 1988; Murphy i cols, 1991).

La neurotoxicitat del Mn és un esdeveniment retardat, requerint un temps llarg d'exposició, suggerint que un lent però persistent alliberament de Mn a llocs crítics pot, almenys en part, ser la raó fonamental de la toxicitat latent (Giantusos i cols, 1997).

#### Acumulació de Mn al SNC

- Quan s'injecta de manera intranasal clorur de Mn a rates s'ha demostrat que es produeix un increment del contingut de Mn al cervell, el qual és temps i dosi dependent. L'elevació del contingut de Mn a l'estriat, una de les suposades dianes de la toxicitat del Mn, es dona només quan les injeccions intranasals són repetides (Giantusos i cols, 1997). En rates, és on s'han fet més estudis d'exposició experimental a Mn. Segons els autors, s'han trobat increments significatius de Mn:

- 
- Als ganglis basals, còrtex, cerebel i fetge, comparat amb rates control (Calabresi i cols, 2001).
  - Increments a l'estriat, cerebel i cervell en rates exposades a altes dosis de Mn (Dorman i cols, 2000).
  - Concentracions de Mn més altes respecte del grup control al putamen, cerebel, còrtex frontal i globus pà.lid; on el globus pà.lid tenia l'increment més alt de Mn al cervell, seguit del putamen i del còrtex frontal (St-Pierre i cols, 2001).
  - Nivells de Mn incrementats en l'estriat, hipotàlem i hipocamp (Lai i cols, 1999).
  - De manera global, increment de Mn al cervell i cerebel (Centonze i cols, 2001).
- L'ús de tècniques d'IRM ha revelat, que de manera similar als humans, els micós macacs als quals se'ls hi ha administrat altes dosis de Mn, presenten elevades concentracions d'aquest element al cervell localitzades a l'estriat, globus pà.lid i substància negra (Aschner i cols, 2001).
  - En coloms exposats a Mn per inhalació, es va trobar que les concentracions del metall al cervell, a més de pulmó i os, eren significativament més altes respecte a les trobades en animals control (Sierra i cols, 1998).

### Alteracions funcionals

- En micós rhesus exposats a clorur de Mn per un període de 18 mesos es van observar moviments de tipus corèic, rigidesa, i tremolors fins a les mans; i també una degeneració neuronal estesa i una proliferació neurològica (Seth i Chandra, 1988).
- Estudis en conills exposats a Mn per via respiratòria mostraven degeneració neuronal al còrtex cerebral i cerebelar, nucli caudat, putamen i substància negra. Aquestes alteracions estaven associades amb la proliferació de la neuroglia en aquestes regions (Chandra, 1972).

---

Alteracions a nivell cel.lular

En rates, el tractament crònic amb Mn altera la distribució regional de Mn al cervell i aquesta alteració de la distribució de Mn també comporta uns canvis regiò-específics d'altres elements. També indueix canvis diferencials en les distribucions subcel.lulars de metalls i electrolits i introdueix increments en l'acumulació de Mn al nucli, mitocondris i sinaptosomes. Els mitocondris del cervell serien la diana subcel.lular de la toxicitat del Mn. Si els mitocondris del cervell constitueixen una important diana subcel.lular per la toxicitat del Mn, llavors l'increment de l'acumulació d'aquest element als mitocondris del cervell s'esperarà que indueixi disfunció mitocondrial (Lai i cols, 1999). L'efecte neurotòxic del Mn sembla ser que exerciria una inhibició de la funció mitocondrial i l'efecte neurotòxic del Mn a baixes concentracions podria estar mediatitzat per l'increment de la producció d'òxid nítric als astròcits (Spranger i cols, 1998).

Alteracions a nivell de neurotransmissors

El que sembla clar és que la neurotoxicitat del Mn és deguda a les alteracions en el sistema de neurotransmissió, suggerint alteracions en les funcions dopaminèrgica, serotoninèrgica, colinèrgica i gabaèrgica (Seth i Chandra, 1984). S'ha descrit un increment de l'activitat de la MAO en el cervell d'animals adults i en desenvolupament exposats a Mn (Seth i Chandra, 1988). També s'ha relacionat amb alteracions al sistema del glutamat, conclouent que existiria una transmissió glutamaèrgica alterada a l'estriat en rates intoxicades crònicament (Centonze i cols, 2001).

En rates, l'administració intracranial de Mn ( $MnCl_2$ ), s'ha vist que causa una reducció de la Da al nucli caudat i putamen. En ratolins, l'administració addicional de Mn ( $MnCl_2$ ) en la dieta, provoca una reducció de les concentracions de Da al cervell a la vegada que eleva les concentracions de GABA a l'estriat i substància negra (Giantusos i Murray, 1982). Així, en general, els experiments en rosegadors intoxicats amb Mn, mostren una disminució de Da al cervell i un augment de GABA a l'estriat (Seth i Chandra, 1988; Newland, 1999).

Segons Cuesta i cols (1995) la toxicitat crònica per Mn pot produir una hiperactivitat inicial del sistema dopaminèrgic central, seguida d'hipoactivitat. Similarment, una alteració bioquímica bifàsica podria també ser responsable del curs clínic de la intoxicació en humans. Més específicament, en un experiment portat a terme amb ratolins intoxicats per Mn es va trobar una disminució del control de l'alliberació de la Da exercida pels autorreceptors presinàptics en les primeres etapes de l'enverinament per Mn (Cuesta i cols, 1995).

La Da està relacionada amb el moviment motor. Existeixen varis experiments que han valorat l'activitat motora en animals intoxicats per Mn (Seth i Chandra, 1988; Ingersoll i cols, 1995; St-Pierre i cols, 2001).

La toxicitat del Mn ha estat associada amb una disfunció motora i es sabut que el cerebel controla la funció motora i la coordinació. El Mn podria exercir els seus efectes modificant la bioquímica del cerebel, però existeix poca informació descrivint els efectes del Mn en la neuroquímica del cerebel (Lipe i cols, 1999).

### Efectes conductuals

S'ha trobat que, després de l'administració intracranial de Mn Cl<sub>2</sub> en rates, l'activitat motora espontània disminuïa significativa i ràpidament (Aposhian i cols, 1999). Això, contrasta amb altres estudis en que es va administrar Mn per altres vies: oral, i.p., intracranial o inhalat, on l'activitat motora tardava setmanes o mesos en disminuir, si és que ho feia (Aposhian i cols, 1999).

També s'ha descrit en rates sedació, letargia, esquena corbada i piloerecció, a més d'una disminució de l'activitat motora espontània (Inoue i cols, 1975). Altres investigadors han descrit una disminució en l'activitat motora de rates (Ingersoll i cols, 1995) i en ratolins (Cano i cols, 1996) després de l'administració de Mn. En algun estudi no s'han trobat diferències en l'activitat motora de les rates exposades a Mn (Dorman i cols, 2000), mentre que en altres les rates exposades eren significativament més actives (Calabresi i cols, 2001).

De fet, sembla ser que en primera instància es produiria un increment de l'activitat motora, hiperactivitat que aniria seguida si el tractament continua, per hipoactivitat motora (Bonilla, 1984; Nachtman i cols, 1986). Tal com ja descriuen Eriksson i cols (1987) en micos intoxicats amb Mn els animals esdevenien

hiperactius després d'aproximadament 2 mesos de tractament; però després de 5 mesos els animals van esdevenir hipoactius amb marxa inestable i tremolor en acció. També s'ha descrit un dèficit en l'habitució dels rosegadors en la prova del "camp obert" o "open-field" quan es mesuraven els "aixecaments" o "rearings" en rates (Calabresi i cols, 2001) i ratolins (Morganti i cols, 1985). Els ratolins exposats mostraven un increment dels aixecaments al camp obert respecte al grup control. En la prova del camp obert també s'ha trobat un increment en la defecació de les rates tractades amb Mn respecte a les del grup control (Calabresi i cols, 2001).

Tot i amb totes aquestes troballes en quant a diferències de conducta en rates intoxicades amb Mn, no hi ha estudis en rates adultes o neonats que confirmin el desenvolupament d'un síndrome conductual comparable al que s'ha vist en humans i micos intoxicats per Mn (Aschner i cols, 2001).

#### Efectes en la fertilitat

No s'ha portat a terme massa recerca sobre la fertilitat dels animals exposats a Mn, tot i que sí s'ha descrit que ratolins mascles exposats a una dieta amb un elevat contingut de Mn mostren una disminució del tamany dels testicles, vesícules seminals i glàndules del prepuci; tot això fins i tot sense signes neurològics com tremolor i atàxia (Gray i Laskey, 1980). En rates, s'ha trobat una disminució de la fertilitat en les femelles i en els nivells de testosterona en sèrum dels mascles (Laskey i cols, 1982).

#### Pes corporal

El que sí s'ha descrit per varis autors (p.ex. Lipe i cols, 1999) i és força curiós, és una disminució dosi-dependent del pes corporal dels animals exposats a Mn. En aquest sentit s'hauria de valorar si existeix una disregulació del metabolisme, o bé si hi ha una disminució de la ingesta.

*Quelants*

Tot i que alguns autors (Sánchez i cols, 1995) han trobat que el quelant CDTA (àcid ciclohexàdiaminotetraacetic) mobilitzaria el Mn, no s'ha valorat els seus possibles efectes beneficiosos sobre la simptomatologia neurotòxica. Sembla ser que les anomalies neurològiques en humans no han millorat, almenys fins el moment, al tractament amb agents quelants (Adams i cols, 1997).



### 3. L'estrès.

#### 3.1. Generalitats.

El concepte d'estrès pateix d'una falta de definició clara i acceptada pels propis especialistes. Podem trobar fins a cinc tipus de definicions d'estrès, segons aquest es consideri com: una condició ambiental, una apreciació personal, respostes a certes condicions ambientals, relació de desequilibri o una conseqüència nociva concreta patològica (Fernandez i Edo, 1998).

Hans Selye (1907-1982) va introduir el concepte d'estrès i va contribuir a l'establiment de la moderna endocrinologia. Selye va observar que els pacients d'un hospital que patien diferents malalties, sovint exhibien signes i símptomes similars (Selye, 1955; Bertók, 1998). Abans, també havia observat que tots els animals d'un mateix experiment desenvolupaven úlceres d'estómac i d'altres símptomes inespecífics, inclosos els animals del grup control, i va arribar a la conclusió que això era degut a les manipulacions experimentals a les que estaven sotmesos sorgint així el concepte de "resposta d'estrès" (Sapolsky, 1995). Segons Selye (1955), el terme "estrès" defineix un estat o situació del cos produït per diversos agents nocius, i manifestat per un síndrome de canvis que donen a conèixer la presència de l'estrès al cos. A aquests canvis Selye els va denominar "Síndrome General d'Adaptació", i es produeixen en 3 fases:

1. Reacció d'alarma: va incloure en aquesta fase la hipertròfia de l'escorça suprarrenal, atrofia dels òrgans limfàtics i úlceres sagnants a l'estómac i duodè. Més a més, el sistema nerviós simpàtic (SNS) i la medulla suprarrenal augmenten la seva activitat.
2. Fase de resistència o adaptació: en aquesta fase, l'escorça i la medulla suprarrenal retornen al seu ritme normal de secreció hormonal. Els canvis produïts durant la fase d'alarma com a conseqüència de l'augment de secreció de corticoides desapareixen durant aquesta fase.
3. Fase d'esgotament: aquesta última fase només apareix quan l'estrès és molt greu o es perllonga durant llargs períodes de temps. La secreció de corticoides i l'adaptació acaben per disminuir notablement.

(Selye, 1936; Valdés i De Flores, 1986).

Altres definicions més recents d'estrès són:

- L'estrès és una resposta altament individualitzada d'un organisme davant d'una sèrie de reptes externs i interns, que l'individu no pot controlar o ho fa només amb una major o menor dificultat (Vogel, 1993).
- L'estrès és una amenaça percebuda cap a l'homeostasi i un estímul que causa increment en l'activitat autònoma i/o secreció hormonal (particularment hormones com cortisol i prolactina). El terme estrès "percebut" emfatitza que cada individu pot reaccionar de forma diferent a un esdeveniment o situació, depenent de l'estat físic i de les experiències anteriors (McEwen, 1994a).

### **3.2. L'estrès com a resposta fisiològica.**

Des del punt de vista fisiològic, l'estrès és una resposta altament individualitzada a un repte extern o intern. L'estrès altera el sistema nerviós vegetatiu (SNV) provocant un desequilibri a favor del sistema nerviós simpàtic (SNS), i en aquestes situacions també s'observa una modificació en l'alliberació de glicocorticoides.

Els glicocorticoides són necessaris perquè el nostre organisme respongui d'una forma eficaç a l'estrès, però l'excés d'aquests d'una manera mantinguda pot ser perjudicial per a l'individu (McEwen, 1994b; Sapolsky, 1994a; Stout i Nemeroff, 1994). En qualsevol cas, la resposta a l'estrès serà una resposta programada per: característiques genètiques, constitucionals o adquirides, i constantment modulada per factors ambientals (Valdés i De Flores, 1986).

Existeix considerable evidència que mostra que la resposta de l'eix HPA (hipotàlem-hipòfisi-adrenal), es redueix progressivament després d'exposicions repetides al mateix estressor. L'habitució dependria de múltiples factors: la intensitat de l'estrès, l'interval de temps intersecció, o la variabilitat interindividual (Lachuer i cols, 1994).

L'estrès, biològic i evolutivament, és una resposta fisiològica que es produeix de forma puntual –estrès agut–, però en l'actualitat, la majoria de les situacions que ens provoquen estrès són d'origen social o psicològic (relacions

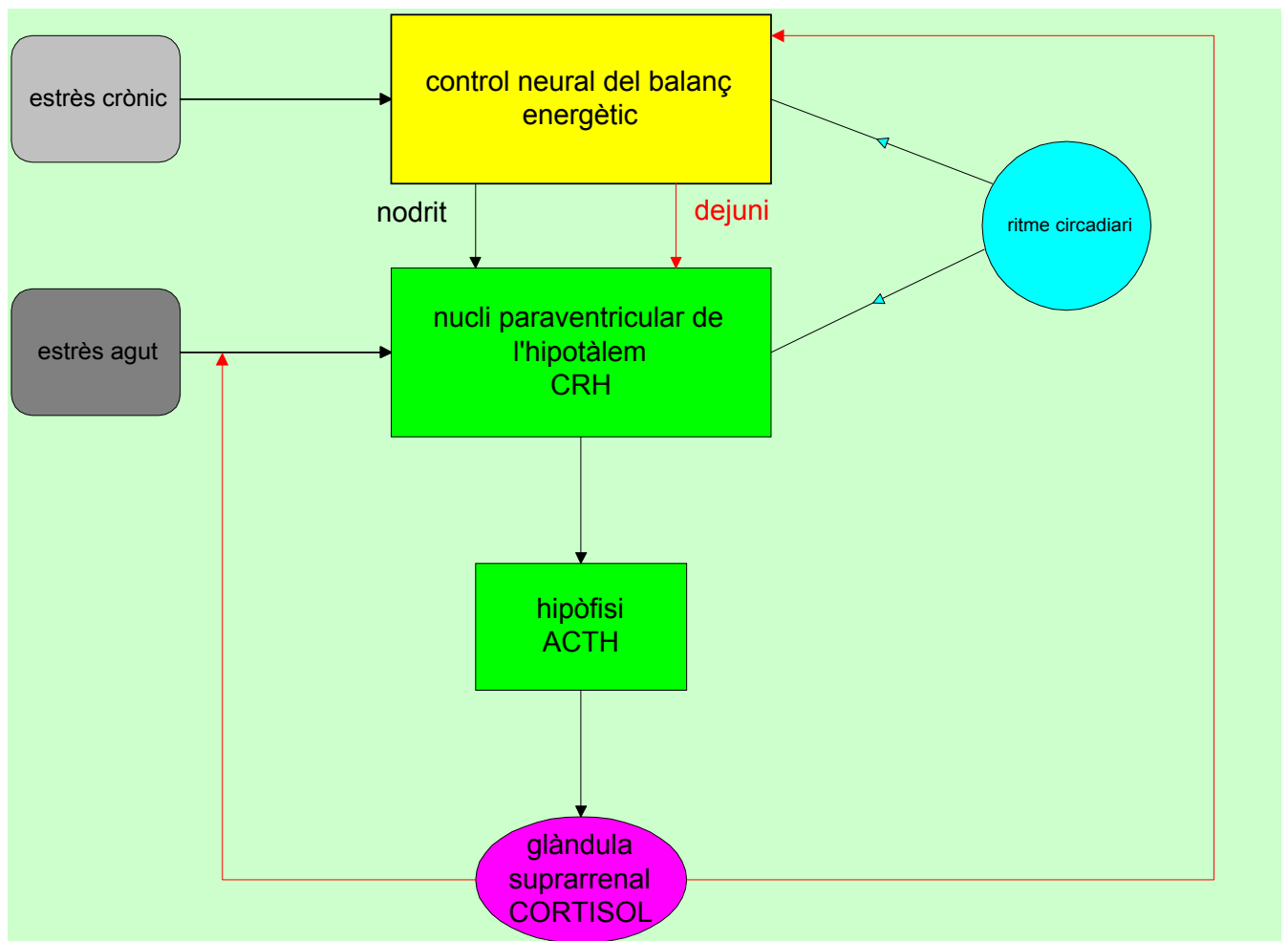
personals, promoció en el treball...). Així, activen d'una forma permanent –estrès crònic- aquest sistema i això augmenta la vulnerabilitat del subjecte a desenvolupar patologies.

Els glicocorticoides poden ser tant un risc afegit com un factor protector, depenent dels nivells i la durada. Tant el dèficit com l'excés d'aquestes hormones pot engegar mecanismes que facilitin la instauració de patologies tant a nivell general com específicament a nivell del SNC.

Els glicocorticoides, juntament amb els mineralcorticoides són les principals hormones segregades per la glàndula suprarrenal (còrtex suprarrenal). La secreció de glicocorticoides es dona des de les zones fasciculades i reticulars del còrtex suprarrenal, i depèn de la secreció d'ACTH (hormona adrenocorticotropa) des de la hipòfisi, que al seu torn és regulada per l'alliberació de CRH (factor alliberador d'hormona adrenocorticotropa) des de l'hipotàlem (nucli paraventricular APV). La secreció d'aquests factors segueix un ritme circadiari ben desenvolupat després dels primers anys de vida (Nelson i cols, 1980), i el seu patró d'alliberament pot estar modulats per diverses variables com per exemple l'exposició prèvia a situacions estressants (Curtis i cols, 1995), estrès físic o psicològic, l'exercici (Del Corral i cols, 1994), o els nivells de glucosa (Dallman i cols, 1994); així, el dejuni també tindria un efecte inhibidor sobre la secreció del cortisol en determinades situacions.

A més, aquest sistema té un mecanisme d'autorregulació de l'alliberació anomenat retroalimentació negativa (*feedback* negatiu), que s'exerceix principalment a nivell hipotalàmic a través dels dos subtipus principals de receptors pels glicocorticoides: els receptors mineralcorticoides (MR o subtipus I) i els receptors glicocorticoides (GR o subtipus II), els receptors MR tenen una alta afinitat tant pels glicocorticoides com pels mineralcorticoides. Exerceixen efectes de tipus excitador, sent els responsables dels efectes tòncics d'aquestes substàncies, mentre que els receptors GR tenen una baixa afinitat tant pels mineralcorticoides com per als glicocorticoides, de tal manera que només són ocupats a altes concentracions de glicocorticoides, i els seus efectes són de tipus inhibitori (efectes fàssics). L'ocupació d'aquests a l'hipotàlem i a altres estructures centrals provoca la inhibició de l'alliberació de CRH per part de l'hipotàlem, i per tant, la disminució en ACTH i en

glicocorticoides (McEwen, 1994b) (*figura I. 9*). Per altra part, l'hipotàlem és una estructura que rep “inputs” de pràcticament totes les estructures del cervell i de la perifèria. Els receptors de tipus II ó GR semblen tenir el rol més important en la regulació de l'estrès fisiològic, i també serien els més afectats per les experiències primerenques (Gunnar i Barr, 1998).



**Figura I. 9.** Esquema de l'alliberació del cortisol

El cortisol és el principal glicocorticoide que secreten els humans i altres primats, mentre que en rosegadors aquest pràcticament no existeix, trobant-se en el seu lloc la corticosterona. En línies generals podem considerar-los com les hormones

---

de l'estrès, que permeten a l'organisme respostes ràpides, eficaces i adaptatives. Els seus efectes generals són:

- Augment dels nivells de glucosa a la sang mitjançant:
  - la conversió de proteïnes en carbohidrats
  - el trencament del glucògen
  - reducció de la glucogenogènesi
  - augment de la lipólisi
- Immunossupressors
- Antiinflamatoris

Els efectes sobre el SNC es donen principalment sobre l'hipotàlem, l'hipocamp, l'amígdala, el còrtex prefrontal i el tronc del cervell. En general, es pot dir que:

- Introdueixen una resposta perifèrica al cervell.
- Controlen a llarg termini l'excitabilitat d'alguns grups neurals.
- Modulen les funcions cognitives durant l'estrès.

A nivell cel.lular, podem observar canvis ràpids (supressió o excitació) o lents (a llarg termini), modificant la resposta a neurotransmissors o les propietats de membrana (Joels, 1997).

### **3.2.1. Diferències individuals en la resposta a l'estrès.**

Els organismes, difereixen en la seva vulnerabilitat a l'estrès en resposta a estressors físics i sobretot psicològics. Hi ha una variabilitat interindividual més gran en la magnitud i qualitat de les respostes als estressors psicològics. En els estressors psicològics, és acceptat que en realitat la interpretació d'un estímul com a nociu o perillós és el que determina la resposta d'estrès, i no necessàriament l'estímul en sí. L'estrès psicològic és un procés que depèn de l'avaluació cognitiva que cada individu fa de la situació, a més de la seva capacitat d'habitució. Situacions d'amenaça són percebudes i avaluades de diferent forma pels individus, i les seves respostes presenten igualment notables diferències (Buendia, 1993). Les respostes al

repte són individualitzades, i existiran per tant diferències individuals tant en les respostes endocrines com autonòmiques (McEwen, 1994a).

Alguns investigadors han posat èmfasi al rol de la genètica, i altres a les diferents experiències perinatals en l'augment de les diferències en la resposta de l'adult a l'estrès (Sapolsky, 1994b). La resposta de l'hipotàlem a qualsevol estrès depèn no només de l'estressor específic, sinó també de la duració del patró d'estimulació, factors constitucionals, experiències prèvies, l'edat i sexe de l'individu, experiències perinatals i posició o no de dominància dins d'un grup social (Lightman, 1994). Així, existeixen també autors que han estudiat els trets de personalitat com a moduladors de la resposta cardiovascular a l'estrès (Al'Absi i cols, 2000).

L'estrès és una resposta altament individualitzada, la qual està determinada per factors genètics i ambientals, i que fa les generalitzacions força difícils. Un organisme sa pot suportar l'estrès per un cert temps sense experimentar trastorns significatius. Tanmateix, si existeix vulnerabilitat en algun òrgan, llavors l'estrès pot causar canvis patològics en aquest (Vogel, 1993).

### **3.2.2. Models d'estrès en animals d'experimentació.**

Els animals poden ser sotmesos a diferents tipus d'estressors, en els quals predominaran segons el tipus, l'estrès físic (calor, injeccions...), psicològic (aïllament), o mixt (immobilització o "restraint") (Chernoff i cols, 1988; Kimmel i cols, 1993; Murata i cols, 1993; Rasco i Hood, 1994, 1995; Domingo i cols, 1995; Miller i Chernoff, 1995; Grandin, 1997). També és pot estudiar l'estrès provocant de forma química l'augment de glucocorticoides, com per exemple mitjançant l'administració de corticosterona (Magariños i McEwen, 1995). Això permet estudiar de forma aïllada un dels sistemes involucrats en la resposta a l'estrès.

#### **3.2.2.1. Administració d'hidrocortisona.**

Els efectes de l'estrès estan principalment relacionats amb els glucocorticoides. L'hidrocortisona administrada en animals d'experimentació es pot

fer servir com a substitut de condicions estressants, reduint així els efectes indesitjables d'altres condicions d'estrès físic. Per altra part, estan descrites i es coneixen les dosis d'hidrocortisona que substitueixen a situacions d'estrès lleuger-moderat (Magariños i McEwen, 1995).

### **3.2.2.2. Estrès per immobilització (“restraint”).**

Un dels models més coneguts i utilitzats com inductor d'estrès en animals és la immobilització. Aquest model s'utilitza a l'actualitat però té una llarga història. Així, Selye al 1936 ja va realitzar un treball sobre la influència de l'estrès per immobilització en animals de laboratori. L'estrès per immobilització o “restraint”, és un model molt utilitzat per ser un estressor fàcilment controlable que es considera un model mixt d'estrès físic moderat i psicològic. S'ha utilitzat en moltes àrees de la biologia per avaluar la base dels canvis fisiològics associats a l'estrès (Marcilhac i Siaud, 1996; Colomina i cols, 1997, 2000; Alonso i cols, 2000).

En els últims anys s'ha utilitzat per avaluar els efectes de l'estrès sobre el SNC i més concretament els seus efectes en l'aprenentatge i la memòria (p.ex. Luine i cols, 1994, 1996; Szuran i cols, 1994).

### **3.2.2.3. Estrès per soroll.**

Està àmpliament acceptat que el soroll pot ser un estressor que causa canvis en les funcions biològiques. S'ha descrit que pot provocar modificacions endocrines tal com provoquen altres models d'estrès (Paparelli i cols, 1992; Soldani i cols, 1997; Salvetti i cols, 2000). El soroll es considera generalment com un factor estressant ambiental que les persones troben en el dia a dia (Gesí i cols, 1999) i, és un model d'estrès que és fàcilment aplicable a l'experimentació en animals. A la vegada, és força interessant el seu estudi degut a l'increment en les societats industrialitzades d'aquest factor, on les persones es poden trobar exposades no només en el lloc de treball, sinó també en el seu ambient familiar i de lleure. Així, molts investigadors han utilitzat el soroll com a model d'estrès en els seus estudis, com un model d'estimulació crònica de l'eix HPA (Alario i cols, 1987; Stam i cols, 1999). També

s'ha utilitzat per avaluar els efectes de l'estrès sobre el desenvolupament (Kimmel i cols, 1976; Nawrot i cols, 1980), i la seva interacció amb altres tòxics durant el desenvolupament (p.ex. Murata i cols, 1993).

Aquests experiments s'han portat a terme utilitzant diferents paradigmes (diferent tipus de soroll, intensitat, duració, amb intervals etc.), i fins i tot, alguns autors han intentat comparar diferents paradigmes de soroll amb possibles diferències en l'efecte estressant de cadascun (Nawrot i cols, 1980).

### **3.3. Efectes de l'estrès en el desenvolupament.**

El desenvolupament del SNC està determinat per factors genètics i per l'entorn postnatal, però també per l'entorn matern durant la gestació. En aquest sentit, s'ha trobat una correlació altament significativa entre morbiditat infantil i estrès matern (Stott, 1973).

S'han fet estudis en humans utilitzant tests psicològics per determinar els nivells d'estrès. Els resultats, indiquen que l'ansietat severa podria estar associada amb un augment en el nombre de parts prematurs, parts amb un menor pes del bebè, i probablement parts amb altres alteracions de diversa índole. L'ansietat severa està també associada amb altres factors afegits a l'estrès, els quals influeixen sobre la gestació, com són l'hàbit de fumar, una pobra nutrició, o un baix nivell socioeconòmic entre d'altres (Scialli, 1988; Wadhwa i cols, 1993). En contrast amb els resultats d'estudis epidemiològics, les investigacions amb animals de laboratori aporten dades més concretes encara que més controvertides (Morishina i cols, 1978; Scialli, 1988).

Durant els últims anys varis estudis han demostrat alteracions primerenques en el desenvolupament motor i anormalitats en el comportament de la descendència de mares estressades, amb increment d'emocionalitat en les cries durant la seva maduresa, respostes alterades davant una situació novedosa i desordres en el curs normal de la diferenciació sexual, perdurables fins la maduresa (Barlow i cols, 1978; Fride i cols, 1986; Chantal i cols, 1994).

En humans, al naixement i durant el període neonatal, neonats i lactants, tenen el sistema adrenocortical altament làbil i sensible a l'estimulació (Gunnar,



1998). La investigació en animals mostra clarament que les experiències primerenques “programen” els circuits d’estrès del cervell d’una manera que afectarà la posterior competència cognitiva, la resposta emocional i l’activitat dels sistemes fisiològics que orquestren les nostres reaccions a l’estrès i al repte (Meaney i cols, 1994; Gunnar i Barr, 1998).

El cortisol, a l’igual que altres hormones, és necessari per un desenvolupament normal de l’organisme. Els nivells de cortisol regulen la mort neuronal (apoptosi) i modulen la diferenciació i creixement neuronal (Koob i cols, 1994; Gunnar i Barr, 1998; King i Edwards, 1999).

Les experiències prenatales i postnatales determinen la quantitat de receptors per a glicocorticoides al cervell (Gunnar, 1998). L’exposició prenatal a corticoides indueix una disminució de la neurogènesi al gir dentat de l’hipocamp (Lemaire i cols, 2000), disminueix els nivells de receptors, i per tant augmenta i perllonga la resposta de l’eix a l’estrès. Així, s’ha descrit un augment de la por, disminució de la capacitat atencional, disminució de la resposta immune i augment de les catecolamines (Gunnar, 1998). Fins i tot, s’ha suggerit que l’estrès matern podria tenir efectes a llarg termini en els sistemes noradrenèrgic i dopaminèrgic de les cries (Schneider i cols, 1998). En aquest sentit, es va comprovar que l’estrès prenatal en rates produeix una descendència que és hipersensible a estímuls que provoquen ansietat, suggerint una menor capacitat d’habitució, mostrant-se més vulnerables a estímuls estressants (Peters, 1982; Fride i cols, 1986).

Alguns investigadors han proposat que les diferències que es troben durant la maduresa de rates prenatalment exposades a estrès respecte rates control, només es manifestarien si aquestes són enfrontades a situacions que constitueixen una novetat o una situació estressant per l’animal (Fride i cols, 1986; Szuran i cols, 1991).

Una altra diferència que es va observar en rates prenatalment estressades, és referent al funcionament cognitiu (McGivern i cols, 1986). Es conegut que l’hipocamp és crític per l’aprenentatge espacial, i que l’estrès produeix un empitjorament de les tasques espacials relacionades amb l’hipocamp (Lemaire i cols, 2000). Es va veure que l’estrès prenatal disminuïa el pes de l’hipocamp en ambdós sexes (Morris, 1984; Szuran i cols, 1994).

Chantal i cols (1994), van trobar en rates diferents respostes davant un estímul, tant en mascles com en femelles prenatalment estressats. Només els mascles presentaven uns nivells de corticosterona elevats als dies 3 i 21 després de la situació novedosa. Aquests nivells perduraven fins als 90 dies. També es va observar una disminució dels receptors de corticosteroides I i II de l'hipocamp als dies 21 i 90, però no es va trobar quan es va observar al 3er dia de vida.

Altres estudis parlen de que en ambdós sexes, diferents estímuls estressants com la calor, la immobilització, etc.; alteren el curs normal de la diferenciació sexual i també comporten alteracions del comportament sociosexual. Els efectes són més a llarg termini i acostumen a ser desmasculinització i feminització. En molts rosegadors, l'estrès prenatal va disminuir la freqüència de copulació i va augmentar les agressions entre mascles i l'infanticidi. A les femelles, es va produir una alteració dels cicles, reducció de la sensibilització sexual i reducció del comportament agressiu postpart, alteracions en el comportament matern, i reducció de la fertilitat i la fecunditat (Vom Saal, 1983; Anderson i cols, 1985).

Una qüestió que està encara per resoldre és si els efectes de l'estrès prenatal són mediatos per la reducció de la ingesta i per la reducció del guany de pes dels animals gestants sotmesos a estrès. Tampoc està clar si aquesta reducció de la ingesta i de l'increment de pes deguts a l'estrès, estimulen o actuen juntament amb els canvis hormonals que es donen en el fetus i en les femelles gestants durant situacions d'estrès (Kinsley i Svare, 1986).

S'han observat reduccions agudes en els nivells materns de progesterona i de gonadotropina en rates i ratolins gestants amb malnutrició (Rattner i cols, 1979). També hi ha alteracions en el comportament relacionades amb la copulació i en la descendència de rates amb malnutrició durant la gestació, les quals són molt similars a les que s'han descrit per estrès o immobilització (Rhees i Fleming, 1981). Ward i Wainwright (1988), després de sotmetre a ratolins a estrès per immobilització sota diverses condicions van observar que la baixa nutrició resultant de l'estrès per immobilització és suficient per produir els dèficits observats en la descendència en quant al pes al naixement i pes del cervell als 32 dies de vida, confirmant així els resultats obtinguts per Kinsley i Svare (1986) en rates.

En el sentit contrari a l'estrès prenatal, l'exposició postnatal a una cura materna adequada pot provocar un augment dels receptors dels glicocorticoides i, per tant, una millor regulació de la resposta als estressors podent arribar a revertir els efectes adversos de l'estrès prenatal (Gunnar, 1998).

Els organismes i les psiues difereixen tremendament en la seva vulnerabilitat a l'estrès en resposta a estressors físics i sobretot psicològics. En aquesta variabilitat interindividual hi té a veure la genètica, les experiències perinatals, així com altres experiències al llarg de la vida que augmentaran les diferències en la resposta de l'adult a l'estrès (Sapolsky, 1994b).

### **3.4. Efectes de l'estrès en l'adult.**

En un principi, els canvis fisiològics i metabòlics que es produeixen en l'organisme davant una situació estressant ajudarien a l'individu a afrontar la situació. Però quan la intensitat i/o duració de l'estímul estressant supera determinats nivells, la resposta a l'estrès desencadenada pot suposar una amenaça per la salut i el benestar de l'individu, podent-se produir alteracions fisiològiques, metabòliques i psicològiques.

Trastorns relacionats amb l'estrès que han rebut força atenció són:

- Alteracions en el sistema cardiovascular.

Quan els nivells plasmàtics de glucocorticoides es troben elevats durant un llarg període de temps, s'impedeix l'acció de la insulina sobre la captura de la glucosa per part de les cèl.lules, de manera que es produeix un increment en els nivells plasmàtics de glucosa. L'elevació dels nivells de glucosa juntament amb l'elevació dels nivells de glucocorticoides, produeix un emmagatzematge important de greix i la formació de plaques d'arteriosclerosi. Com a conseqüència es redueix enormement el rec sanguini al cor, podent-se arribar a produir una isquèmia coronària.

- Alteracions en el sistema digestiu i problemes associats.

L'augment en els nivells de glucocorticoides que es produeix en situacions d'estrès sembla ser responsable de l'increment en la producció d'àcid clorhídric i en la reducció de les cobertes de protecció de les parets de l'estómac. Aquest procés incrementa la vulnerabilitat de l'estómac al dany, així com la possibilitat de què en períodes d'estrès es reactivin o compliquin possibles úlceres pèptiques ja existents.

- Alteracions sexuals i del sistema reproductor.

L'estrès redueix considerablement els nivells de testosterona en mascles, i d'estradiol en femelles. Mentre que en homes la inhibició de la testosterona on és molt important no produeix greus conseqüències manifestes, la reducció dels estrògens en femelles, a més de reduir la libido, comporta importants alteracions del cicle menstrual (dismenorrees), causant generalment retards i disminució, arribant fins i tot a desaparèixer completament el procés d'ovulació.

A més, l'increment dels nivells de prolactina en femelles interfereix en l'acció de la progesterona. Per tant, en cas de produir-se fecundació, les possibilitats de que l'òvul fecundat s'implanti en l'úter es redueixen.

En homes, es pot veure inhibida la resposta davant de l'acte sexual, ja que es necessita un predomini simpàtic en la major part de l'organisme, mentre que per l'erecció es necessita un to parasimpàtic (Sandi i cols, 2001).

La CRH inhibeix aspectes fisiològics i conductuals de la funció reproductiva. La reproducció és un estat que requereix un alt cost metabòlic, particularment en les femelles, i ha d'estar lògicament aplaçada durant l'estressor (Sapolsky i cols, 2000).

L'exposició a estressors o a elevats nivells de corticosteroides, inhibeix les conductes reproductives en molts vertebrats. Aquestes respostes conductuals són consistents amb la idea que les funcions "no-essencials" són suprimides durant la resposta d'estrès per permetre a l'organisme respondre més efectivament a l'estressor (Orchinik, 1998).

### 3.4.1. Estrès i funció cognitiva.

Els efectes de l'estrès en la funció cognitiva han despertat gran interès i s'han efectuat diferents estudis, no sense resultats controvertits. Existeixen múltiples evidències a partir d'estudis en animals i humans, que indica que l'estrès i els glucocorticoides influencien la funció cognitiva (De Quervain i cols, 1998). Les accions col·lectives dels glucocorticoides al cervell són paradoxals. Nivells basals de glucocorticoides són essencials per al desenvolupament, plasticitat i supervivència neuronal, mentre que glucocorticoides als nivells d'estrès semblen produir pèrdua neuronal (Reagan i McEwen, 1997).

L'estrès inicia una cascada d'esdeveniments fisiològics, incloent alts nivells de catecolamines circulants i glucocorticoides. Les catecolamines són alliberades ràpidament, i típicament retornen a nivells basals en uns 10 minuts, però la resposta dels glucocorticoides és molt més lenta (De Quervain i cols, 1998).

Mentre que l'activació induïda per l'estrès del SNS i l'alliberament de les catecolamines són capaços de preparar ràpidament a l'organisme per l'acció i mobilitzen recursos energètics, el paper precís de la corticotropina (ACTH) i els glucocorticoides en les situacions estressants és més difícil d'entendre. De fet, la concentració màxima de glucocorticoides arriba aproximadament uns 20-30 minuts després del començament de l'estrès, al temps que la majoria de les situacions estressants naturals ja s'han acabat (García i cols, 2000).

L'estrès afectaria la cognició de moltes maneres, actuant ràpidament via les catecolamines i més lentament via els glucocorticoides (McEwen i Sapolsky, 1995). Els glucocorticoides semblen tenir beneficis a curt termini al cervell, però també incrementen la vulnerabilitat neural amb una exposició perllongada. El balanç entre els efectes normals i els patològics dels glucocorticoides dependria de la concentració. Les concentracions baixes de glucocorticoides activarien els receptors mineralocorticoides (o tipus I) i les altes concentracions activarien els receptors glucocorticoides (o tipus II). L'activació d'aquests dos receptors tindrien diferents efectes fisiològics (Porter i Landfield, 1998).

Així, l'estrès sever i perllongat, físic i psicològic causaria dany al cervell. En primats no humans s'ha observat degeneració i reducció de les neurones de l'hipocamp. Les neurones piramidals de l'hipocamp contenen una alta concentració de receptors (I i II) de glucocorticoides i semblen ser altament vulnerables a l'hipercortisolèmia causada per l'estrès sever, així com a l'exposició a glucocorticoides exògens. L'hipocamp mediatitza un feed-back negatiu de l'alliberació de cortisol i, per tant, una falta o deficiència de les neurones de l'hipocamp atenuaria aquest feedback resultant en hipercortisolèmia (Uno i cols, 1994).

El dany inicial és exacerbat perquè l'hipocamp inhibeix l'alliberació hipotalàmic-hipofisiària de la CRH i l'ACTH, la qual controla l'alliberament dels glucocorticoides. D'aquesta manera, la desinhibició que segueix al dany hipocampal pot desencadenar un continu increment dels nivells de glucocorticoides i un debilitament més ràpid de l'hipocamp (Porter i Landfield, 1998).

També existiria però un control amigdalari de l'activació metabòlica induïda per l'estrès dels sistemes monoaminèrgics, així com una integració amigdalari dels components conductuals i endocrins (Goldstein i cols, 1996).

Tot i que molts dels mecanismes moleculars pels quals els glucocorticoides regulen la neurogènesi, plasticitat i mort neuronal encara estan per determinar, hi ha un mecanisme ben definit a través del qual els glucocorticoides participen en la pèrdua neuronal manifestada en isquèmia, excitotoxicitat i possiblement envelliment, té lloc via la disminució de la utilització de la glucosa en el cervell en general, i de l'hipocamp en particular. Conseqüència d'aquesta disminució en les concentracions de glucosa neuronal és la inactivació dels transportadors dependents d'energia dels aminoàcids excitatòris. Aquesta inactivació lidera un increment dels nivells de glutamat a la sinapsi i una activació excessiva dels receptors d'aminoàcids excitatoris postsinàptics. Una de les conseqüències d'aquesta excessiva estimulació glutamèrgica seria un increment en els nivells de calci ( $Ca^{++}$ ) intracel·lular a través dels receptors NMDA, i possiblement també a través dels canals de  $Ca^{++}$  voltatge-dependents. Els increments intracel·lulars de  $Ca^{++}$  activen diversos enzims cel·lulars (Reagan i McEwen, 1997). L'excés intracel·lular de  $Ca^{++}$  mediatitza els processos d'excitotoxicitat mitjançada pel  $Ca^{++}$ .

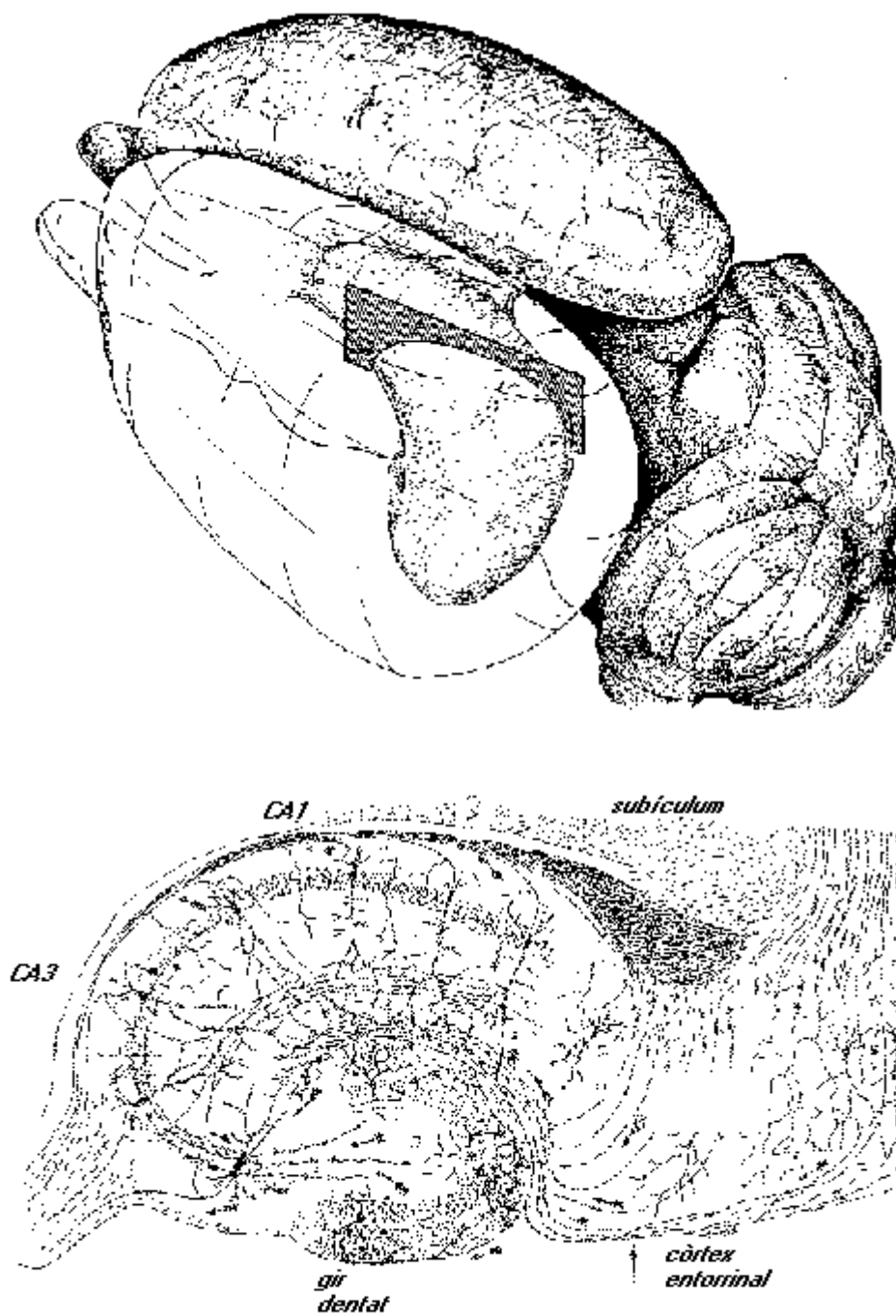
Altres autors (McIntosh i cols, 1998) destaquen el fet que els glucocorticoides incrementarien la vulnerabilitat de les neurones hipocampals alterant potencialment la capacitat de defensa neuronal davant el dany oxidatiu.

L'estrès repetit causa atrofia de les dendrites a la regió CA3 de l'hipocamp. Ambdós, l'estrès agut i el crònic, suprimirien la neurogènesi de les neurones granulars del gir dentat de l'hipocamp (Magariños i cols, 1998; McEwen, 1999) (*figura I.10*).

L'hipocamp, un òrgan diana per les hormones de l'estrès, és una regió del cervell especialment vulnerable. Juntament però amb els glucocorticoides també s'ha de tenir en compte en el procés d'atrofia hipocampal, el paper dels aminoàcids excitatòris, dels receptors NMDA i l'alteració del sistema gabaèrgic (McEwen, 1997). La 5HT també ha estat destacada per alguns autors pel paper que jugaria en l'etiologia del dany hipocampal (Bremner, 1999). L'exposició crònica a nivells estressants de glucocorticoides altera molts aspectes de la funció hipocampal i lideraria a la neurodegeneració (Orchinik i cols, 1995).

Les neurones piramidals de la CA3 són particularment sensibles als nivells de glucocorticoides davant l'estrès; però l'atrofia que exhibeixen les neurones de la CA3, segons alguns autors, seria reversible, il·lustrant així la plasticitat de l'hipocamp (Reagan i McEwen, 1997). Tanmateix, altres investigadors afirmen que encara no es coneix si existeix aquesta reversibilitat en humans (Bremner, 1999).

És conegut que l'hipocamp juga un paper molt important en els nous aprenentatges i la memòria, a la vegada que és un important centre per la integració de les respostes a l'estrès, cognitives, neurohormonals i neuroquímiques (Bremner, 1999). Les hormones alliberades durant l'estrès, o el contingut emocional explícit durant l'aprenentatge, es podrien considerar com crítics en la modulació de la memòria (McEwen i Sapolsky, 1995). Les àrees cerebrals implicades, que per molts autors estan acceptades com les principals, serien l'hipocamp i l'amígdala (Cahill i McGaugh, 1996).



*Figura I.10. Hipocamp de rata.*



Els corticosteroides creuen fàcilment la barrera hematoencefàlica degut a la seva naturalesa lipofílica, accedint al cervell, on exerceixen les seves accions en aquelles cèl.lules que presenten receptors per aquestes hormones. El fet de que els corticosteroides siguin capaços d'arribar al cervell i unir-se a receptors específics, fa que aquestes hormones tinguin propietats funcionals que les identifiquin com candidates idònies per la modulació cognitiva en situacions d'estrès (Cordero i Sandi, 1998).

Papez (1937) va proposar el sistema límbic com el substrat subcortical de les emocions. Donat que l'hipocamp és una estructura que connecta de manera recíproca àrees d'aquest sistema i estructures superiors, va hipotetitzar que la cognició i l'emoció s'afectarien mútuament.

Per altra banda, els corticoides modularien processos neurals implicats en la funció cognitiva seguint un efecte en forma d'U-invertida. L'eliminació dels glucocorticoides endògens, així com concentracions elevades dels mateixos, resultarien en la supressió de la potenciació hipocampal, mentre que concentracions que correspondrien a nivells basals o d'una activació moderada facilitarien la plasticitat sinàptica (Lupien i McEwen, 1997).

Diversos investigadors han estudiat els efectes de l'estrès sobre la funció cognitiva d'humans, on s'ha trobat que condicions estressants disminuirien significativament l'execució en la memòria declarativa (Lupien i cols, 1997). Tanmateix l'administració de cortisona empitjoraria el record, però no l'adquisició o la consolidació (De Quervain i cols, 2000).

En rosegadors, hi ha autors (Shors, 2001) que parlen de que l'exposició a un estressor agut augmentaria la formació de noves associacions (en rates mascles). Altres investigadors també han trobat una significativa millora de l'execució en rates en una tasca de memòria espacial, quan aquestes eren sotmeses a estrès durant 13 dies, tot i que no trobaven cap diferència als 7 dies d'exposició (Luine i cols, 1996). Per altra banda, quan els animals eren estressats durant 21 dies apareixia un empitjorament de la tasca de memòria espacial (Luine i cols, 1994). Així, la duració de l'estrès afectaria diferencialment l'aprenentatge i la memòria, amb curts períodes

d'estrès servint com a funció adaptativa, mentre que duracions més llargues causarien canvis desadaptatius.

A nivell neural, l'examen de les neurones piramidals de l'àrea CA3 de l'hipocamp als 10-13 dies d'estrès, amb tècniques de Golgi, no mostrava efectes de l'estrès en l'arborització dendrítica basal ni distal (Luine i cols, 1996). Però l'estrès repetit, causaria atrofia de les dendrites distals de les neurones piramidals de la CA3, resultant en una disminució dels punts d'arborització dendrítica distal, i de la llargària total de les dendrites de les cèl·lules piramidals de la regió CA3 de l'hipocamp (Luine i cols, 1994; Magariños i cols, 1997). Els efectes sobre l'adquisició serien temporals, i els canvis en les dendrites depenents de l'estrès serien reversibles (Luine i cols, 1994). Els mateixos investigadors han postulat que l'activitat de la 5HT contribuiria a l'atrofia de les dendrites, o que alternativament interactuaria amb els aminoàcids excitatoris per produir atrofia neuronal hipocampal (Luine i cols, 1994).

Altres autors suggereixen que el volum de Da en el còrtex prefrontal incrementat per un estrès lleu en rosegadors, produiria els dèficits en tasques de memòria espacial, tot i que també accepten que l'estrès afectaria altres sistemes de neurotransmissors a part de la Da (Murphy i cols, 1996).

Altrament, és de destacar que quan s'han utilitzat animals dels dos sexes, s'han trobat resultats contradictoris; de manera que el mateix estressor podia facilitar l'adquisició en un sexe i empitjorar-la en un altre. Aquesta podria ser la causa de que els resultats referits a la literatura moltes vegades són contradictoris (Szuran i cols, 1994; Wood i Shors, 1998).

### **3.4.2. Estrès i psicopatologia.**

L'estrès pot influir sobre la salut perquè modifica el funcionament fisiològic general de l'organisme (p.ex. freqüència cardíaca, pressió sanguínia, respiració, tensió muscular), l'activitat neuroendocrina i la competència immunològica (Sandin, 1993). Sembla clar que existeix una relació entre l'estrès, especialment en les situacions de la vida "indesitjables", i la reducció del benestar psicològic; tot i que el

---

paper d'aquestes situacions en l'etiologia dels trastorns mentals es manté controvertit (Moore i Burrows, 1996).

Alguns autors parlen de que la disfunció de l'eix HPA seria la clau de les condicions psicopatològiques, les quals inclouen les respostes anormals a estressors, com l'anorèxia nerviosa, ansietat i trastorns afectius (Koob i cols, 1994; Stout i Nemeroff, 1994).

Altres investigadors suggereixen que l'exposició repetida i perllongada a la resposta fisiològica de l'estrès estaria en la base de nombrosos trastorns. És freqüent que l'exposició a un procés traumàtic comporti el desenvolupament d'algunes de les següents alteracions psicològiques que es relacionen amb l'estrès:

- Trastorn per estrès posttraumàtic
- Estrès agut
- Ansietat
- Trastorns de pànic
- Depressió
- Dissociació
- Baixa autoestima i sentiment de culpabilitat
- Alteracions psicossomàtiques
- Dificultats sexuals
- Problemes en el desenvolupament de les relacions interpersonals
- Anorèxia nerviosa
- Esquizofrènia
- Addicció a l'alcohol, drogues o altres fàrmacs
- Intents de suïcidi

(Moore i Burrows, 1996; Sandi i cols, 2001).

Potser el desordre més clarament relacionat amb l'estrès o situacions estressants és el trastorn per estrès posttraumàtic. La síndrome d'estrès posttraumàtic és un trastorn neuropsiquiàtric en el que la vivència d'un esdeveniment "traumàtic" causa en l'individu un impacte tant important que, en endavant, el seu funcionament cognitiu es veurà afectat de forma decisiva. A nivell endocrí, els pacients que han

desenvolupat aquesta síndrome acostumen a presentar una alteració peculiar en l'eix HPA. Generalment, aquestes persones mostren en situacions basals, nivells de cortisol plasmàtics inferiors als nivells de subjectes control. Tanmateix, davant estímuls que els hi recorden la vivència traumàtica, la resposta de secreció hormonal de l'eix és més alta que la dels subjectes control. Aquesta hiperactivació també la trobem en el SNS amb la secreció d'adrenalina (E) i noradrenalina (NE). Els sistemes fisiològics de l'estrès dels individus amb estrès postraumàtic són particularment reactius quan s'enfronten davant qualsevol element que els hi recorda el trauma (Sandi i cols, 2001).

Tant l'estrès agut com el crònic tindrien un impacte perjudicial en la funció normal del sistema dopaminèrgic. En aquest sentit, l'estrès influiria directament varies conductes bàsiques, les quals estan mediatitzades pel sistema dopaminèrgic; com l'activitat motora, l'activitat sexual, la gana i la sensibilització creuada a drogues d'abús (Pani i cols, 2000).

### **3.5. Estrès i tòxics.**

La interacció tòxica es referiria a la modificació qualitativa o quantitativa de la toxicitat d'una substància per l'acció d'una altra. Aquest procés apareix principalment en l'organisme animal després de l'exposició, donant com a resultat una resposta tòxica superior o inferior a la suma dels efectes (Krishnan i Brodeur, 1994).

En general aquestes interaccions tòxiques poden ser bàsicament de 4 tipus:

- 1- Additives, quan l'efecte global és la simple suma dels efectes individuals.
- 2- Sinèrgiques, quan l'efecte de l'exposició a dos agents és més gran que els efectes de cadascun d'ells considerats de forma individual.
- 3- Potenciadores, quan un agent no provoca efectes tòxics en un determinat òrgan; però si l'exposició es produeix conjuntament amb un altre agent tòxic, la toxicitat d'aquest últim s'incrementa significativament.
- 4- Antagonistes, quan l'acció dels dos agents a la vegada resulta menys tòxica que cadascun d'ells per separat (Nelson, 1994).

Independentment del tipus, la interacció és conseqüència d'una alteració en la toxicocinètica i/o toxicodinàmica dels agents implicats. Una alteració a nivell de la toxicocinètica suposa una modulació a nivell de l'absorció, distribució, metabolisme i/o excreció d'un agent per l'efecte d'un altre. Una alteració a nivell de la toxicodinàmica suposaria la competència entre dues substàncies per un teixit "diana", o bé que un dels tòxics alteraria la susceptibilitat de cèl.lules "diana" cap als efectes de l'altre tòxic (Krishnan i Brodeur, 1994).

En aquest sentit, les diferències entre organismes estressats i no estressats poden canviar la cinètica i la dinàmica d'un agent químic. S'ha demostrat la capacitat de l'estrès per augmentar la motilitat gastrointestinal a més d'alterar el rec sanguini, circumstàncies que afecten a l'absorció, distribució, metabolisme i eliminació de tòxics (Vogel, 1987).

L'estrès matern durant la gestació és també capaç d'afectar de forma adversa el desenvolupament embriofetal. S'han investigat les interaccions d'agents químics tòxics amb l'estrès matern i s'ha vist que la teratogenicitat dels tòxics pot veure's incrementada per l'acció de l'estrès (Rasco i Hood, 1994; Colomina i cols, 1995, 1997, 1998). Tot i així, en general aquest increment es manifesta quan el tòxic és administrat a dosis que ja són tòxiques per si mateixes per a les mares; és a dir, l'estrès només actuaria sobre els tòxics quan les dosis són suficientment altes com per produir ja toxicitat materna (Chernoff i cols, 1988).

#### 4. Influència de l'estrès en la neurotoxicitat del Mn.

Al 1981 alguns investigadors ja van implicar en la toxicitat del Mn els trastorns de les hormones de l'eix HPA (Deskin i cols, 1981). Es sap que la toxicitat del Mn afecta principalment als ganglis basals, i la relació dels nuclis caudat i putamen en l'aprenentatge i la memòria està subjecta a controvèrsia (Setlow i McGaugh, 1999). Així, la funció cognitiva podria estar afectada directament pel Mn per aquesta via, i en aquest cas, l'efecte de l'estrès en aquesta afectació seria de suma importància.

Com a element essencial, les concentracions de Mn al cervell i les seves possibles variacions sota condicions d'estrès han estat estudiades, trobant-se resultats controvertits. Alguns autors han trobat una disminució significativa de les concentracions de Mn dependents de la duració de l'estrès per immobilització a les que eren sotmeses rates d'experimentació (Saito i cols, 1995). Les regions on es va observar aquesta disminució eren: cerebel, cervell mig i tàlem, hipocamp i còrtex cerebral. Aquests autors varen concloure que els canvis en les concentracions de Mn i altres elements essencials en les regions del cervell podrien estar estretament relacionades amb els processos d'activació neural induïts per estímuls psicològics moderats, i que aquest metabolisme dels metalls estaria regulat diferencialment d'acord amb el paper funcional de cadascun al SNC (Saito i cols, 1995).

Altres autors però, han trobat que els nivells de Mn al fetge, ronyons i cervell estaven significativament augmentats per l'estrès (immobilització o fred) al qual eren sotmesos ratolins d'experimentació (Izgut-Uysal i cols, 2000). En aquest treball, els autors conclouen que l'estrès afectaria el procés metabòlic de la distribució del Mn en els teixits.

Existeixen pocs estudis que hagin avaluat directament l'efecte de l'estrès sobre la neurotoxicitat del Mn. Chandra i cols (1979) van tractar rates amb Mn Cl<sub>2</sub> i les van sotmetre a estrès per immobilització. L'increment de les concentracions de Mn va ser quasi idèntic després del tractament amb Mn sol, o en combinació amb estrès. Així, els autors conclouen que l'estrès no influïa el balanç del Mn al SNC, tot i que si van trobar alteracions en els continguts de tirosina, triptòfan, Da i NE en el teixit cerebral

de les rates després de l'exposició a Mn i immobilització. Això suggereix que els efectes neurotòxics del metall podrien ser més pronunciats en situacions estressants.

Altres investigadors, en un estudi en rates sobre els efectes de l'exposició a Mn i la possible modulació per l'estrès, suggereixen que el Mn afectaria predominantment l'eix HPA, i que la interacció del neurotòxic, Mn i l'estrès podrien servir per tant, per desemmascarar efectes tòxics que d'altra manera serien imperceptibles (Hong i cols, 1984).

Donat que avui en dia, tant els adults d'ambdós sexes com les dones embarassades podrien estar exposats a alts nivells de Mn tant de manera ocupacional com ambiental, i a la vegada estar exposats a varis tipus d'estrès, tant a la feina com a casa, fa que aquesta combinació i els seus possibles efectes en el SNC tinguin interès creixent.