



Universidad  
Católica de  
Valencia  
San Vicente Mártir

TFG

**TRABAJO FIN DE GRADO**

---

**GRADO EN  
VETERINARIA**

# Efectos neurotóxicos de los compuestos de aluminio en mamíferos

Alumno: Víctor Zomeño Gurrea  
Tutora: Celia Almela Camañas  
Curso académico: 2020/2021



Facultad de Veterinaria  
y Ciencias Experimentales  
Universidad Católica de Valencia  
San Vicente Mártir

## Índice

1. Resumen .....	1
2. Introducción.....	3
3. Objetivos.....	9
4. Material y métodos.....	10
5. Resultados y discusión.....	11
5.1 Resultados bibliométricos.....	11
5.2 Resultados del contenido de los documentos seleccionados.....	12
5.2.1 Acumulación de aluminio en el hipocampo.....	12
5.2.2 Efectos en el comportamiento.....	15
5.2.3 Efectos neurodegenerativos.....	20
5.2.4 Efectos en los sistemas oxidativos.....	25
5.3 Discusión.....	30
6. Conclusiones .....	34
7. Bibliografía .....	35

## 1. Resumen

El aluminio siempre ha sido un elemento cotidiano en nuestra vida y al que cada día se le da más usos, por lo que tanto personas como animales se ven expuestos a él diariamente. El objetivo general de esta revisión bibliográfica fue analizar el efecto neurotóxico de diferentes compuestos de aluminio. En cuanto a los objetivos específicos, se ha evaluado la acumulación del aluminio y sus efectos en el hipocampo, se ha determinado el daño neurológico a través de exámenes histológicos y el daño oxidativo que genera.

En lo que respecta a la metodología, se han empleado dos bases de datos “Pubmed” y “Web Of Science” utilizando ecuaciones de búsqueda formadas por palabras clave. El análisis bibliométrico ha dado un resultado de 1467 artículos. Tras la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, eliminación de duplicidades y tras seleccionar por título y abstract se ha reducido a un número de 32 documentos.

Independientemente de la vía de administración las sales de aluminio se acumulan en distintas regiones del cerebro, especialmente en el hipocampo. En esta zona altera funciones relacionadas con la memoria, memoria espacial y capacidades cognitivas. Estos efectos fueron estudiados a través de ensayos como el laberinto de agua de Morris o la “shuttle box”.

Esta revisión ha puesto de manifiesto que la acumulación del aluminio aumentó el índice de células apoptóticas y disminuyó el número de células totales. El estrés oxidativo quedó reflejado por la reducción en la actividad de la citocromo c oxidasa y de la superóxido dismutasa.

**Palabras clave:** *aluminio, neurotoxicidad, hipocampo, memoria, neurodegeneración, mamíferos.*

## **Abstract**

Aluminium has always been a quotidian element in our lives and it's used more and more every day, which people and animals are exposed to it on a daily basis. The general objective of this bibliographic review was to analyze the neurotoxic effect of different aluminium compounds.

Regarding the specific objectives, the accumulation of aluminium and its effects in the hippocampus have been evaluated, neurological damage has been determined through histological examinations and the oxidative damage it generates.

Concerning the methodology, two databases, Pubmed and Web Of Science, have been used using search equations made up of keywords. The bibliometric analysis has yielded a result of 1467 articles. After applying the inclusion and exclusion criteria, elimination of duplications and after selecting by title and abstract, it has been reduced to a number of 32 documents.

Regardless the route of administration, aluminium salts accumulate in different regions of the brain, especially the hippocampus. In this area it alters functions related to memory, spatial memory and cognitive abilities. These effects were studied through tests such as the Morris water maze or the shuttle box.

This review has shown that accumulation of aluminium increased the rate of apoptotic cells and decreased the number of total cells. Oxidative stress was reflected by reduction in the activity of cytochrome c oxidase and superoxide dismutase.

## 2. Introducción

El aluminio (Al) se trata de uno de los metales más abundantes en el planeta encontrándose principalmente de forma natural en la tierra y el agua (Wang, Xing, Zhao y Deng, 2010). Su uso está cada vez más extendido y se puede encontrar en todo tipo de materiales, como baterías de teléfonos, cerámica, combustibles, aditivos alimentarios, cosmética, medicamentos...(Jaishankar, Tseten, Anbalagan, Mathew y Beeregowda, 2014).

A pesar de encontrarse principalmente en la tierra, en el agua, y en muchos elementos cotidianos, las principales vías de exposición son a través de la dieta, el agua de bebida, dérmica y por la inhalación de partículas (Monteiro-Riviere, Oldenburg e Inman, 2010). En esta última vía es interesante el hecho de que el epitelio nasal tiene una parte del sistema nervioso con un contacto estrecho con el medio externo, de esta manera, el aluminio puede ser absorbido y distribuido rápidamente al cerebro por transporte axonal (Gómez, Esparza, Cabré, García y Domingo, 2008; Perl y Good, 1987).

A pesar de ser un metal tan abundante, no parece que ningún organismo vivo tenga necesidad biológica por el aluminio, por lo que no es considerado un metal esencial para la vida, y no sólo eso, sino que se ha visto que su consumo lleva a su acumulación en el organismo a lo largo de la vida de los seres vivos (Rengel, 2004).

### Toxicocinética

La gravedad de sus efectos y su acumulación en los organismos depende tanto de la cantidad de aluminio que sea absorbido por el organismo, como la vía de administración. La vía más común de exposición es a través del sistema digestivo y únicamente se absorbe alrededor del 0,1% de la cantidad ingerida (Walton, 2007). La captación de aluminio en los tejidos y órganos puede ocurrir mediante la unión del complejo Al-transferrina al receptor de transferrina siguiendo la misma vía interna que el hierro (Fe). Una vez en sangre circula principalmente unido a la transferrina o a citrato (Exley, 2003; Kool, Fierens y Lambrecht, 2012).

El aluminio se puede encontrar en cualquier órgano o tejido, incluyendo fluido cerebro-espinal, linfa, orina... (Yokel, Wilson, Harris y Halestrap, 2002). Esto es debido a su facilidad para atravesar tanto el epitelio como los endotelios, a través de los cuales, también puede pasar dentro de las células de forma pasiva, e incluso a través de las uniones estrechas, especialmente si se trata de complejos de aluminio de bajo peso molecular (Exley, 2003).

La toxicidad del aluminio viene de sus formas solubles y el daño producido sería por las formas trivalentes del aluminio ( $Al^{+3}$ ): Éste es promotor de la oxidación mediada por radicales aniones

superóxidos, ya esté mediada o no por hierro. El  $\text{Al}^{+3}$  en contacto con el agua y con oxígeno produce un desplazamiento de la molécula de agua para formar superóxido bidentato ( $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{+3} + \text{O}_2^{\bullet-} \rightarrow \text{Al}(\text{O}_2^{\bullet}) (\text{H}_2\text{O})_5^{+2} + \text{H}_2\text{O}$ ). La formación de estos radicales junto con la potenciación redox del  $\text{Al}^{+3}$ , del  $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$  y la formación de OH no hemo mediado parecen provocar la actividad oxidativa del  $\text{Al}^{+3}$  en los seres vivos. La formación de OH es producida por la forma semi-reducida de radicales de  $\text{AlO}_2$  (óxido de aluminio) que disminuyen el Fe mitocondrial y promueven la generación de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$  y  $\text{OH}^{\bullet}$  (peróxido de hidrógeno, oxígeno, hidróxido) (Exley y Mold, 2015).

Por tanto, la formación de este  $\text{Al}^{+3}$  es el que induce la formación de radicales libres que provocan el daño oxidativo llevando a una apoptosis. En cambio, la toxicidad de los óxidos de aluminio insolubles depende principalmente de su comportamiento como partículas (Exley y Mold, 2015).

El mecanismo principal de daño es la apoptosis, siendo esta una respuesta a ese estrés oxidativo que produce una liberación de citocromo c (Willhite et al., 2014; Weisser et al., 2018). Además, algunos estudios sugieren que la activación de proteína quinasa activada por estrés o la quinasa c-Jun N-terminal (SAPK/JNK) puede ser inducida por el aluminio potenciando así aún más la apoptosis (Fu et al., 2003).

### **Efectos tóxicos del aluminio en distintos sistemas**

A raíz de esta acumulación y de ser un metal muy presente en el ambiente ha sido objeto de estudio debido a sus potenciales efectos tóxicos.

### **Efectos tóxicos en el sistema reproductivo**

Algunos de los efectos tóxicos más estudiados ha sido su toxicidad sobre el sistema reproductivo. En un estudio realizado por Silva Lima et al. (2020) expusieron a jerbos a una dosis de 10 mg/kg de cloruro de aluminio vía oral durante 30 días (siendo de media la humana de 1-20mg al día). Tras estos 30 días se sacrificaron y se observaron diferentes efectos tanto en machos como en hembras. En machos causó cambios prostáticos, como hiperplasia prostática e inflamación glandular, también se observó daño en los túbulos seminíferos y una reducción del epitelio germinal. Por otro lado, en hembras destacó la aparición de neoplasias intraepiteliales, una mayor toxicidad celular con polimorfismo nuclear, degeneración epitelial, vacuolas autofágicas. En los ovarios se apreció un menor número de folículos ováricos y oocitos en crecimiento, además de un menor número de folículos primarios, secundarios y cuerpos lúteos.

En otro estudio que realizaron en ratas Martínez et al. (2017), para observar los efectos tóxicos en la calidad del espermatozoide se hicieron dos experimentos, uno a altas dosis y otro a bajas dosis. En este último caso, los animales se dividieron en tres grupos, siendo uno el control, a otro se le administró una dosis de 1,5mg/kg y en el tercer grupo se le dio 8,3mg/kg. El ensayo tuvo una duración de 60 días. En el estudio del efecto de altas dosis, había un grupo control y otro tratado con 100mg/kg de aluminio durante 42 días. Al finalizar el periodo de estudio, los animales fueron sacrificados. Algunos de los resultados que se pudieron ver fue una disminución de la producción diaria de espermatozoides en ambos experimentos, también se observaron anomalías morfológicas y una menor motilidad espermática, reducción de grosor de los tubos seminíferos y un aumento de los túbulos seminíferos con ausencia de células espermatogénicas.

### **Efectos tóxicos en tejido óseo**

En relación con la toxicidad que el aluminio puede provocar a nivel óseo, Li et al. (2011) realizaron un estudio sobre sus efectos. Para este ensayo utilizaron 100 ratas, dividiéndolas en dos grupos, siendo uno el grupo control y al otro se le dio agua de bebida *ad libitum* con una concentración de  $AlCl_3$  de 430mg/l. Se sacrificaron un número de 10 ratas cada 30 días y se observaron cambios en los niveles de elementos en el hueso. Hubo una disminución significativa en el calcio (Ca) magnesio (Mg), y fósforo (P) en los animales sacrificados a partir del día 120. Además, se observó un aumento del aluminio presente en el hueso desde el inicio del tratamiento en el grupo tratado. Los niveles de zinc (Zn), hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn), selenio (Se), boro (B) y estroncio (Sr) también disminuyeron gradualmente a lo largo de todo el tratamiento con aluminio. La densidad mineral del hueso se midió en los fémures, siendo esta mayor en los tratados con aluminio el día 30 del ensayo. No obstante, a partir de este día, empezó a disminuir en comparación con el grupo control, hasta el día 150 donde la densidad ya era significativamente menor. Esto fue debido a que el Al interfería tanto con la deposición de otros elementos como pueden ser el Ca, Mg y P que son los principales responsables de su mineralización, así como en la función que tienen otros elementos en el metabolismo del hueso (Kidder et al. 1993; Rodríguez, Felsenfeld y Llach, 1990).

El Zn, Sr y B promueven la formación de hidroxiapatita y mejoran su cristalización en condiciones normales. Por tanto, el Al puede alterar sus funciones traduciéndose en un empeoramiento de la calidad del hueso (Gür et al. 2002).

### **Efectos tóxicos en sistema digestivo**

También hay descritos efectos en el sistema digestivo. Esto podría tener mayor importancia debido a que la mayoría del aluminio que entra en el organismo es por vía intestinal (Vignal, Desreumaux y Body-Malapel, 2016).

En un estudio realizado en ratas, se les administraron dosis bajas de citrato de aluminio (1,5mg/kg), induciendo una hipersensibilidad visceral, la cual perduró en el tiempo incluso después de haber cesado la ingesta de aluminio. Esto ocurrió por regularse al alza los nociceptores por el aluminio siendo necesaria la activación de mastocitos y de PAR2 para la hipersensibilidad inducida por aluminio (Esquerre et al., 2019).

### **Neurotoxicidad**

Una de las características más estudiadas es su actividad como neurotóxico y su influencia en enfermedades neurodegenerativas (Fulgenzi, Vietti y Ferrero, 2014).

Los efectos neurotóxicos pueden provocar enfermedades neurodegenerativas, las cuales se definen por una incrementada y progresiva muerte neuronal (Piemonte, Rossi y Carletti, 2011) la cual se manifiesta con pérdida de memoria, inteligencia, capacidad de movimiento... (Ambegaokar, Roy y Jackson, 2010).

Sus efectos neurotóxicos han sido estudiados desde hace ya más de 50 años relacionándolos con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer en humanos, siendo de gran interés y preocupación por los daños irreversibles y desconocidos que este metal tan abundante podría provocar. Además, las neuronas son muy sensibles al daño por estrés oxidativo al tener una alta tasa metabólica y un pobre sistema de defensa frente a la oxidación, el cual puede ser inducido por este tipo de toxicidad ya que tiene una menor actividad enzimática de compuestos antioxidantes como la catalasa, superóxido dismutasa y el glutatión peroxidasa (Jomova, Vondrakova, Lawson y Valko, 2010). Otros factores que hacen que sea especialmente sensible al daño oxidativo es que las membranas del cerebro tienen abundantes ácidos grasos poliinsaturados altamente oxidables (Ma et al., 2010).

Esta preocupación ha llevado a que organismos como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) estableciera una Ingesta Semanal Tolerable de (PTWI) del Al de 7 mg Al/kg pc/semana a 1 mg Al/kg pc/semana. (SCHEER, 2021). Respecto a sus efectos sobre el sistema nervioso, el aluminio tiende a acumularse en este usando principalmente como vías la sangre, el fluido cerebrospinal y el tracto olfatorio (Peto, 2010). Además, se ha visto que una de las

causas por las que entra más fácilmente en el cerebro es porque el aluminio afecta directamente a la barrera hemato-encefálica, ejerciendo su efecto tóxico en el endotelio y disminuyendo la expresión de proteínas de unión estrecha, facilitando así su entrada y produciendo daño oxidativo (Chen, Yokel, Hennig y Toborek, 2008). La mitocondria es la mayor productora de especies de oxígeno reactivo y de energía en las células. Hay materiales tóxicos como el aluminio que pueden afectar a la cadena de transporte de electrones de la mitocondria, incrementando así la producción de las especies de oxígeno reactivo llevando a una oxidación de ADN mitocondrial, proteínas y lípidos (Halliwell, 1992). Normalmente las células responden a este, estimulando su sistema antioxidante de defensa para protegerse (Prabhakar et al., 2011). Sin embargo, si el sistema de defensa falla al neutralizar la carga oxidativa, las especies de oxígeno reactivo se oxidarán e inactivarán enzimas específicas al oxidar los cofactores, llevando a un estado llamado estrés oxidativo (Patlolla, Berry y Tchounwou, 2011).

Además de los peligros ya mencionados, el cerebro es el órgano donde más aluminio se acumula (Kaneko, Yasui, Takada, Suzuki y Sakurai, 2004), concretamente en el hipocampo según los estudios realizados (Kaur, Joshi, Minz & Gill, 2006). Este tiene un papel fundamental en funciones como el aprendizaje y la memoria (Wu et al., 2014). Una excesiva acumulación de aluminio en el hipocampo puede causar una lesión inflamatoria y daño por radicales libres, lo cual provoca alteraciones del comportamiento y disfunciones cognitivas (Bondy, 2014; Cao et al. 2016). Además, el hipocampo es especialmente vulnerable a la inflamación y al daño ya que tiene abundantes receptores para citoquinas proinflamatorias como la interleucina-1b, interleucina-6 y factores de necrosis tumoral (Teeling & Perry, 2009). Dado que se ha visto que puede alterar las capacidades del cerebro al causar un impacto negativo en la neurotransmisión, ya que el aluminio es capaz de inhibir a las enzimas responsables de la síntesis y la utilización de neurotransmisores. Además, puede alterar las membranas sinápticas que liberan o reciben estas moléculas (Gonçalves y Silva, 2007).

El aluminio tiene capacidad para producir alteraciones en la expresión genética (ElMazoudy y Bekhet, 2016; Paz et al., 2017; Türkez y Toğar, 2012). El tejido nervioso no está exento de este tipo de daño, pues se ha visto que afecta a la expresión génica alterando la expresión de proteasas cerebrales y también ejerce su efecto uniéndose al complejo histona-ADN induciendo cambios conformacionales. Esto lleva a una alteración de la expresión de los genes que disminuye la expresión de neurofilamentos, tubulinas, A $\beta$ PP (precursores de la proteína  $\beta$  amiloide) y enolasa específico-neurona (HUH et al. 2005; Latha, Anitha, Rao y Viswamitra, 2002; Parhad, Krekoski, Mathew y Tran, 1989).

Otro factor que preocupa es el aumento de su uso y especialmente de partículas de nanoaluminio en todo tipo de materiales, tratamientos de aguas, cerámicas y sobre todo en medicamentos. El creciente uso de este tipo de nanopartículas se debe a algunas de sus propiedades como la de aumentar la solubilidad, estimular la respuesta inmune y así mejorar la inmunización en vacunas (Kumar y Gill, 2014; Maquieira, Brun, Garcés-García y Puchades, 2012; Niu, 2018). Las nanopartículas se definen como materiales que tienen un tamaño menor a 100nm (Balasubramanyam et al. 2009). Este incremento tan grande del área de superficie permite aumentar su actividad biológica y facilita su entrada en el organismo. Esto ha motivado que muchos estudios focalicen sus esfuerzos por conocer el efecto dañino que podría ejercer en la salud (Ma et al., 2010).

### **Justificación**

Esta preocupación por su toxicidad ha permitido conocer el mecanismo de acción no solo mediante estudios *in vitro* sino también a través de ensayos con modelos animales.

El hecho de que se conozca con mayor profundidad los efectos a nivel del sistema nervioso se debe a investigaciones realizadas con animales que han permitido también extrapolar los resultados en el campo de la medicina humana. Gracias a esto, se podría realizar nuevos avances para mitigar sus efectos tanto en el campo de la Veterinaria como en el de la Medicina Humana.

### **3. Objetivos**

El objetivo general de la presente revisión bibliográfica es estudiar las publicaciones de los últimos años referentes a la neurotoxicidad de los diferentes compuestos del aluminio en animales mamíferos.

Los objetivos específicos son los siguientes:

- Analizar la acumulación de las sales de aluminio en el hipocampo.
- Evaluar los efectos de la acumulación del aluminio en la región del hipocampo.
- Determinar el daño neurológico en distintas estructuras del cerebro a través de exámenes histológicos.
- Valorar el nivel de estrés oxidativo causado por el aluminio en el sistema nervioso.

## 4. Material y métodos

### Estrategia de búsqueda

Para la realización de esta revisión bibliográfica, se emplearon dos bases de datos, “Pubmed” y “Web Of Science” de todos los artículos publicados en los últimos 10 años (2011-2021), sin aplicar limitaciones de idioma ni lugar de publicación. En la Tabla 1, se muestran las ecuaciones de búsqueda donde se utilizó el operador booleano “AND”.

Se establecieron unos criterios de inclusión y exclusión acordes con la temática y los objetivos del trabajo.

Tabla 1. Ecuaciones de búsqueda y número de resultados (Fuente: elaboración propia)

Ecuación de búsqueda	Resultados de las bases de datos	
	Pubmed	Web of Science
Aluminium AND neurotoxicity	347	116
Aluminium AND spatialmemory	89	13
Aluminium AND brain AND learning	313	24
Aluminium AND hippocampus	508	57

### Criterios de inclusión

Los criterios de inclusión que se consideraron en este estudio fueron:

- Ensayos realizados en animales de experimentación
- Artículos publicados en inglés o castellano.

### Criterios de exclusión

Se excluyeron los siguientes artículos:

- Estudios relacionados con la medicina humana.
- Estudios de toxicidad *in vitro*.
- Revisiones sistemáticas o narrativas, conferencias y patentes.
- Artículos que incluyan otros compuestos distintos del aluminio.
- Artículos cuyo acceso no fue posible.

## 5. Resultados y discusión

### 5.1 Resultados bibliométricos

A partir de las ecuaciones de búsqueda y estableciendo de límite los artículos publicados en los últimos 10 años, se obtuvieron 1257 resultados en "PubMed" y 210 en "WOS", proporcionando un total de 1467 resultados. La aplicación de los criterios de inclusión y exclusión redujo los resultados a 78 artículos.

Las duplicidades halladas tanto dentro de las propias bases de datos como entre ellas fueron eliminadas, resultando un total de 35 artículos. Se excluyeron aquellos documentos que, tras la lectura de su título y abstract, no respondían a los objetivos establecidos en el Trabajo Final de Grado. Por tanto, se utilizaron 32 documentos científicos para llevar a cabo la revisión bibliográfica.

A continuación, en la Figura 1, se muestran los resultados que se obtuvieron en el proceso de búsqueda realizado.

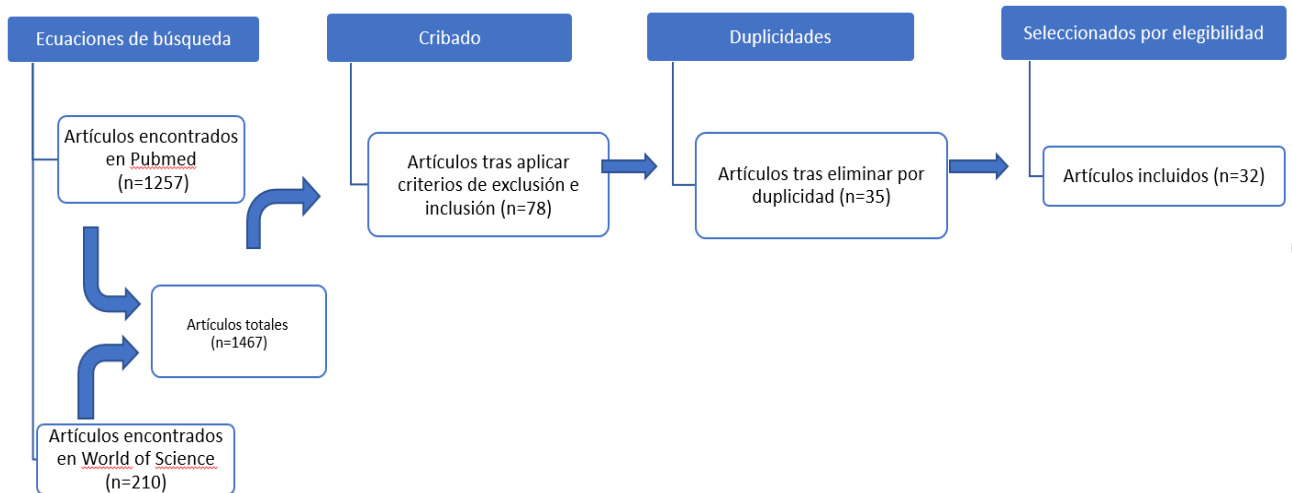


Figura 1. Diagrama del proceso de búsqueda de artículos (Fuente: elaboración propia)

## 5.2 Resultados del contenido de los documentos seleccionados

### 5.2.1 Acumulación de aluminio en el hipocampo

Existen diversos estudios en los que se ha cuantificado el nivel de Al tras un periodo de exposición, con la finalidad de conocer los efectos clínicos de su acumulación (Abu-Taweel, Ajarem y Ahmad, 2012; Fernandes et al., 2020; Imen M'rad et al., 2018; Nie, Lv, Fu y Niu, 2019; Zhang et al., 2013).

Zhang et al. (2013) observaron la acumulación de Al en las crías de ratas Wistar recién nacidas. Estas fueron expuestas a este elemento durante el periodo de lactación y posteriormente, a través del agua de bebida. Las madres fueron divididas en cuatro grupos. Desde un primer momento, a estas se les administró agua destilada con tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) a diferentes concentraciones (0% -control-, 0.2%, 0.4% y 0.6%, respectivamente) durante tres semanas. Tras este periodo, las crías tuvieron acceso al agua a las mismas concentraciones de Al mencionadas anteriormente hasta cumplir los 3 meses.

Los animales fueron sacrificados tras estos tres meses y se evaluó la cantidad de aluminio en el hipocampo mediante espectrofotometría de absorción atómica. Además, se analizó el nivel de Al presente en la sangre.

En las ratas control, los niveles de aluminio eran muy bajos en comparación con las tratadas, siendo en estas últimas mayor la cantidad y además, dependiente de la dosis. Los niveles fueron significativamente superiores en las ratas tratadas tanto a nivel sanguíneo como a nivel del hipocampo tal y como se puede observar en la Figura 2.

En la Figura 2 se muestra la cantidad de aluminio presente en el hipocampo y en la sangre de las ratas sometidas a diferentes concentraciones

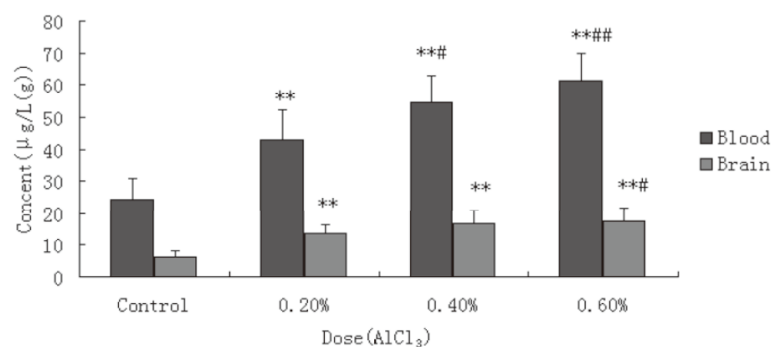


Figura 2. Contenido de  $\text{AlCl}_3$  en el hipocampo y en la sangre de los distintos grupos de animales estudiados durante la lactación y tras cumplir los tres meses de edad. (Fuente Zhang et al., 2013)

Fernandes et al. (2020) también estudiaron el efecto acumulativo que tenía la misma sal de aluminio,  $AlCl_3$ . En este caso, la vía de administración fue por vía gástrica forzada y a diferentes dosis. Para este ensayo se utilizaron 30 ratas macho Wistar, divididas en tres grupos: un control, un segundo grupo al que se le suministró 8.3mg/kg/día (Al1) y al tercero, 32mg/kg/día (Al2). Transcurridos 60 días, los roedores fueron sacrificados y se midieron sus niveles de Al.

La mitad del hipocampo fue disecado y se analizó mediante espectroscopía de absorción atómica. En este caso no hubo diferencias relevantes entre el grupo Al1 y el control. No obstante, el grupo Al2 presentó un aumento significativo en la concentración de Al, siendo de 675.7  $\mu$ g/g. Estos resultados se pueden observar en la Figura 3, donde se muestra las cantidades de Al halladas en la región del hipocampo, en cada uno de los grupos estudiados tras los 60 días de exposición. Tal y como se refleja en la gráfica en el grupo Al2 hubo un aumento significativamente mayor en comparación con los otros grupos estudiados.

Esto muestra concordancia con el estudio anterior, en el que se reflejó la existencia de la dependencia del efecto dosis con la acumulación de este elemento.

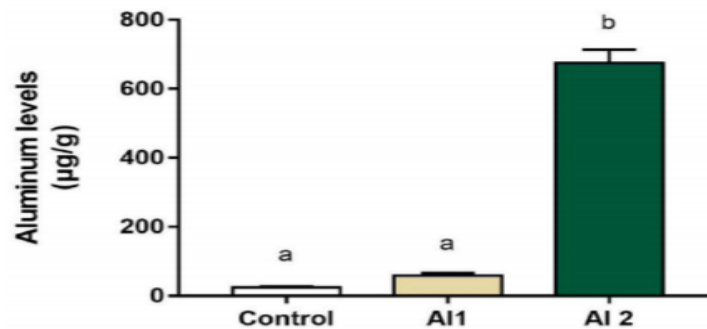


Figura. 3. Concentración de aluminio en ratas macho Wistar según la dosis administrada tras los 60 días de estudio. Siendo el control, ratas no tratadas con  $AlCl_3$ ; Al1 y Al2 ratas tratadas con 8.3mg Al/kg/día y 32mg Al/kg/día respectivamente. (Fuente: Fernandes et al., 2020)

Estos resultados concuerdan con los aportados por Nie et al. (2019) quienes utilizaron 180 ratas, divididas en 10 grupos. A diferencia de los estudios anteriores, en este ensayo se estudió el efecto que tenía la administración vía peritoneal a diferentes concentraciones de sales de aluminio. En este caso, las ratas fueron divididas también en diferentes grupos: dos controles, uno no recibió tratamiento alguno, mientras al otro se le administró únicamente el solvente (sin la sal de Al) en un volumen de 1ml/kg por vía intraperitoneal. Los otros tres grupos recibieron soluciones de maltolato de aluminio ( $Al(mal)_3$ ) a distintas concentraciones (0.41, 0.81 y 1.62 mg/ml). Todas estas soluciones estaban disueltas en un medio con agua destilada y un tampón fosfato alcalino. A su vez, todos los grupos se dividieron en otros 3 en función de la duración de

la exposición, siendo de 30, 60 y 90 días. La concentración de Al en los tejidos se cuantificó mediante espectrofotometría de absorción atómica.

Los resultados mostraron un aumento en la concentración de Al en el tejido del hipocampo. La cantidad de este acumulada, se incrementó a mayor dosis de exposición. Por otro lado, no se observó una relación significativa entre la dosis y el tiempo de exposición. En la Figura 4, se muestran las concentraciones de los distintos grupos en función del tiempo de exposición y de las concentraciones de  $\text{Al}(\text{mal})_3$  a las que fueron expuestos.

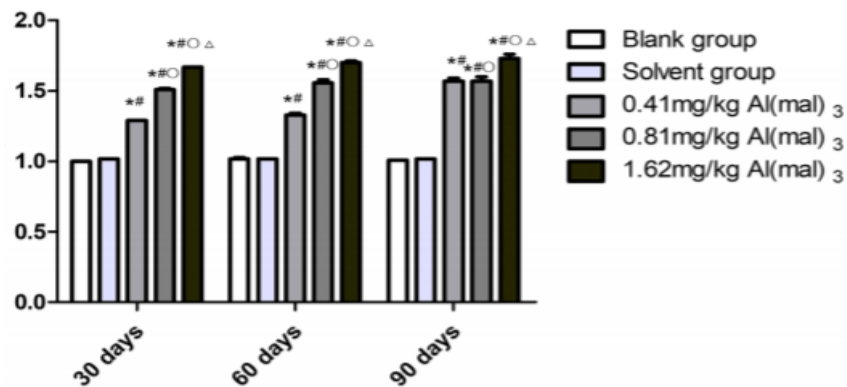


Figura. 4. Concentración de aluminio de los distintos grupos de animales a los que se les suministró diferentes dosis de  $\text{Al}(\text{mal})_3$  y en función del tiempo de administración (30, 60 y 90 días). (Fuente: Nie et al., 2019)

Otra vía de administración utilizada para estudiar la acumulación del Al en el hipocampo, fue la vía intranasal. En este caso Liu et al. (2020) determinaron la acumulación de nanopartículas de Al en distintas zonas del sistema nervioso central (SNC) y sus efectos. Para ello se escogieron 40 ratas, 20 para el grupo control a las cuales se les administró suero salino vía intranasal y a las restantes, se les suministró de la misma forma 20  $\mu\text{g/g}$  de nanopartículas de óxido de aluminio ( $\text{Nano-Al}_2\text{O}_3$ ) una vez al día. Tras 30 días algunos individuos fueron sacrificados para analizar la cantidad de Al acumulada. Se tomaron como muestras distintas zonas del cerebro, para determinar en qué zona la acumulación de nanopartículas fue mayor (bulbo olfatorio, hipocampo, cuerpo estriado, córtex cerebral y cerebelo). En la Figura 5 se aprecian las distintas concentraciones de Al obtenidas en estas zonas analizadas, expresadas en nanogramos de Al por mg de tejido. En este caso, el hipocampo fue la tercera zona que mayor concentración presentó en comparación con el resto de muestras analizadas. Además, este ensayo reflejó que a través de esta vía hubo absorción, ya que la cantidad de este elemento en los animales tratados fue mayor que en el grupo control.

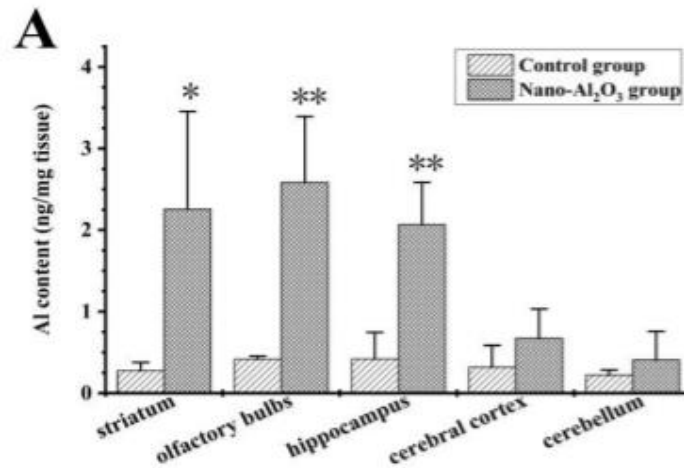


Fig. 5. Concentraciones de aluminio de las distintas regiones analizadas (bulbo olfatorio, hipocampo, cuerpo estriado, córtex cerebral y cerebelo). (Fuente: Liu et al., 2020)

Estos y otros muchos estudios demostraron que los compuestos de Al administrados por distintas vías, se acumulan en distintas partes del SNC, como es en este caso el hipocampo. Además, también se observó cómo esta acumulación es dosis dependiente, es decir, a mayor dosis suministrada, se incrementa su concentración en estas regiones (Cao et al., 2016; Fernandes et al., 2020; Imen M'rad et al., 2018; Liu et al., 2020; Nie et al., 2019; Taweel et al., 2012; Zhang et al., 2013; Yuan, Lee y Hsu, 2012).

### 5.2.2 Efectos en el comportamiento

Múltiples estudios han observado que la acumulación del Al en el hipocampo puede provocar alteraciones del comportamiento como la pérdida de memoria, de la capacidad de aprendizaje o disminución de las capacidades cognitivas (Crépeaux, 2017; Liang, 2012; Shoji, 2018; Zhang, 2014, 2018, 2020).

Un método al que se recurre para analizar los cambios comportamentales es el laberinto acuático de Morris. Dicho laberinto consiste en una piscina de agua circular y de color negro, dividida en cuatro cuadrantes con una plataforma de escape sumergida a un centímetro por debajo del nivel del agua. Alrededor de la piscina, hay cortinas blancas con marcas visuales para que los animales puedan tener una referencia a la hora de memorizar el cuadrante en el que se encuentra la plataforma. Primero se realiza una fase de entrenamiento, en la cual los animales son colocados cada vez en un cuadrante distinto y deben encontrar la plataforma. Esto permite estudiar su memoria espacial (Liang et al. (2012)).

Para conocer el efecto que tenía el Al en la memoria espacial, Liang et al. (2012) administró

$\text{Al}(\text{mal})_3$  vía intraperitoneal a diferentes concentraciones. Para este estudio utilizaron 40 ratas macho Sprague-Dawley y las dividieron en cinco grupos. Se emplearon dos controles, a uno de ellos se le administró únicamente suero salino y al otro, malteolato (7.56mg/kg). Respecto a los grupos tratados con esta sal, las concentraciones fueron las siguientes: 0.27, 0.54, 1.08 mg/kg. La duración del ensayo fue de 2 meses y todos los días se les realizó el test de Morris. Cada día requerían de menos tiempo para encontrar la plataforma. Sin embargo, en los grupos tratados con Al, el tiempo que nadaron cerca de la plataforma fue significativamente menor a los grupos control como se muestra en la Figura 6.

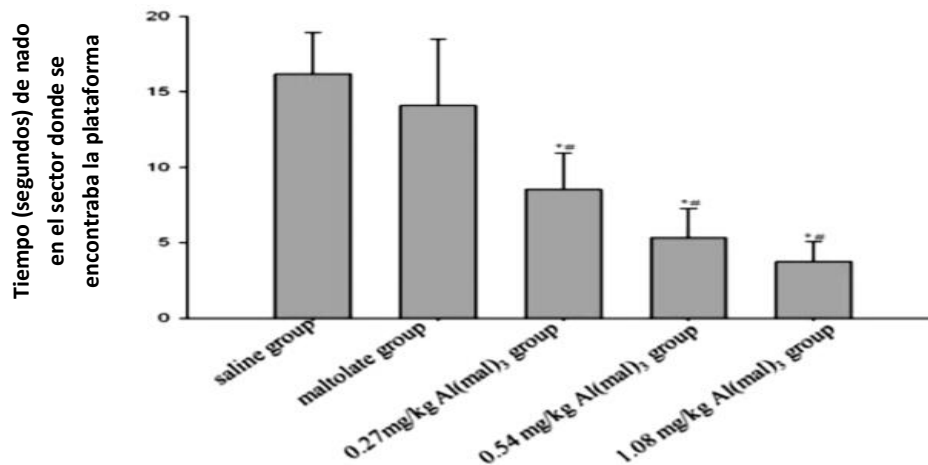


Figura 6. Duración del tiempo en segundos que nadó cada grupo en el sector en el que se encontraba la plataforma en función de la dosis administrada. (Fuente: Liang et al., 2012)

En un estudio mencionado anteriormente de Zhang et al. (2013), también se hizo la prueba con el laberinto de Morris. Tras 5 días de entrenamiento, se dejaron pasar otros 7 días sin introducir los roedores en el laberinto para comprobar su capacidad de memoria a largo plazo. En este caso se vio que los animales tratados con  $\text{AlCl}_3$  eran más lentos al nadar. Además, tuvieron mayor dificultad en encontrar la plataforma y pasaron menos tiempo en el cuadrante donde esta se encontraba. Estos efectos fueron significativamente mayores en los animales que recibieron más dosis de aluminio. En la Figura 7 se muestran las trayectorias representativas de cada uno de los grupos en función de la dosis recibida.

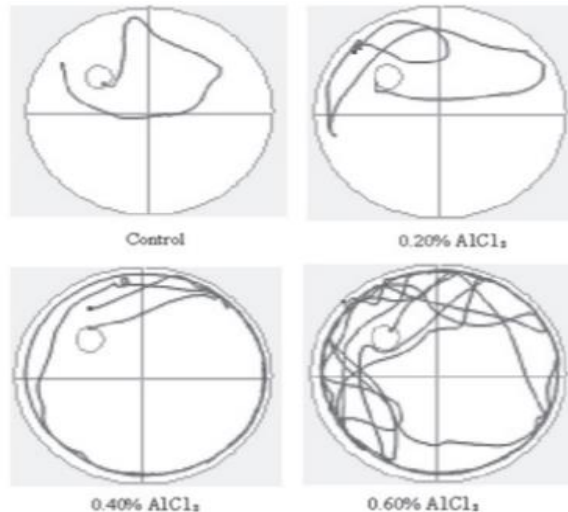


Figura 7. Patrones de movimiento representativos en el laberinto de agua de Morris de cada uno de los grupos según la dosis de  $\text{AlCl}_3$  recibida (control, 0,20%, 0,40% y 0,60%). (Fuente: Zhang et al., 2013)

Para conocer la influencia que tiene la acumulación del Al en la formación del sujeto y durante la lactancia, Taweel et al. (2012) seleccionaron hembras preñadas Swiss-Webster, las cuales se dividieron en tres grupos. El primero era el control, que recibió agua corriente para beber, los otros dos recibieron agua con una cantidad de  $\text{AlCl}_3$  de 300 y 600 mg/kg por día respectivamente. El tratamiento duró desde el día de preñez hasta 15 días después del nacimiento, tras este periodo las crías recibieron agua corriente. A partir de los 30 días del nacimiento se inició el experimento en el laberinto acuático de Morris. El primer día se colocaron los ratones en el laberinto sin la plataforma durante 60 segundos para que se habituasen. En los 4 días siguientes, se entrenaron con la plataforma y se midió el tiempo que tardaban en encontrarla tal y como se muestra en la Figura 8. Los ratones que recibieron sales de Al tardaron más en comparación con el grupo control. Si no la encontraban tras 120 segundos se consideraba como fallo y se les guiaba hasta ella. En la Figura 9 se presenta el número de fallos que exhibieron los distintos grupos de estudio en función de los días ensayados. A los animales que se les suministró una mayor dosis de Al, cometieron mayor cantidad de errores.

Al sexto día, se midió el tiempo que empleaba cada grupo en los diferentes cuadrantes. Los ratones expuestos a las sales de Al permanecieron menos tiempo en el cuadrante donde se encontraba la plataforma en comparación al grupo control. Además, el grupo control era capaz de alcanzar la plataforma con mayor facilidad que el resto.

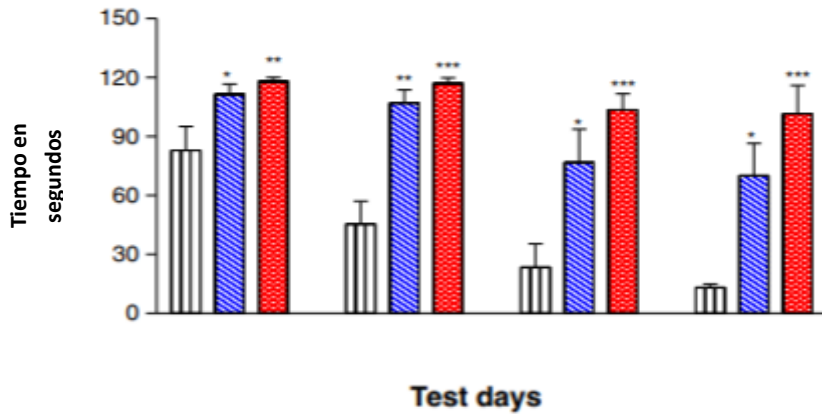


Figura 8. Tiempo empleado por los animales para alcanzar la plataforma, siendo el eje de las “x” los días transcurridos y el eje de las “y” los segundos empleados. Las barras blancas ralladas se corresponderían a los grupos control, la azul al tratado con 300mg/kg y la roja al tratado con 600mg/kg. (Fuente: Taweel et al., 2012)

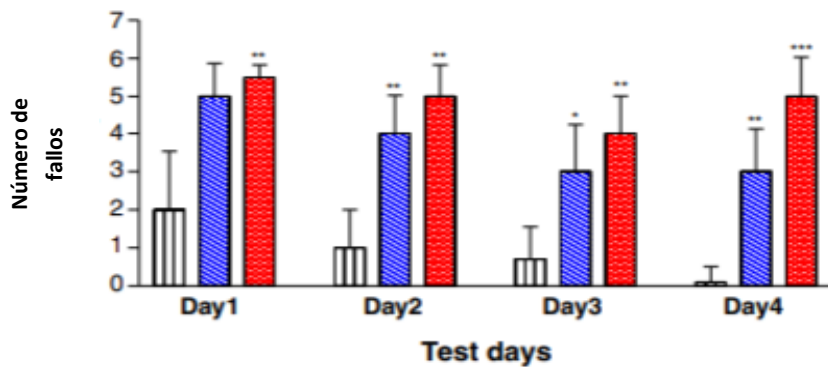


Figura 9. Número de fallos en alcanzar la plataforma por los distintos grupos. Las barras blancas ralladas se corresponderían a los grupos control, la azul al tratado con 300mg/kg y la roja al tratado con 600mg/kg. (Fuente: Taweel et al., 2012)

También se realizó otra prueba como la respuesta de evasión activa, mediante una “shuttle box” (Taweel et al., 2012). Esta prueba consiste en una caja, la cual está dividida en dos cámaras iguales separadas por una pequeña abertura tal y como se muestra en la Figura 10

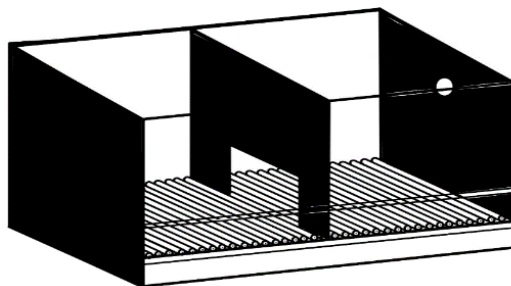


Figura 10. Diseño del “shuttle box”, compuesto por dos cámaras conectadas por una abertura, a través de la cual el animal podrá moverse de la cámara con el estímulo condicionante al no condicionante, o a la inversa. (Fuente: elaboración propia)

En una de las partes, existe un estímulo condicionado y en la otra un estímulo no condicionado, siendo este una descarga eléctrica, lo que suponía una experiencia desagradable. El estímulo condicionado consistía en una luz y un sonido de unos 5 segundos de duración, tras lo cual se aplicaba el estímulo no condicionado durante otros 4 segundos. Esta prueba se realizó a los animales tras 25 días postnatal, efectuándose un total de 50 pruebas en la caja. En la Figura 11, se muestra el número de veces que los animales estudiados evitaron el estímulo negativo. El grupo control fue el que evitó con mayor frecuencia la caja donde estaba el estímulo no condicionado. Por otro lado, en la Figura 12 se indica el tiempo que empleaban en evitar el estímulo negativo. Los animales expuestos al Al presentaron un aprendizaje muy pobre a la hora de reconocer qué caja tenía el estímulo negativo.

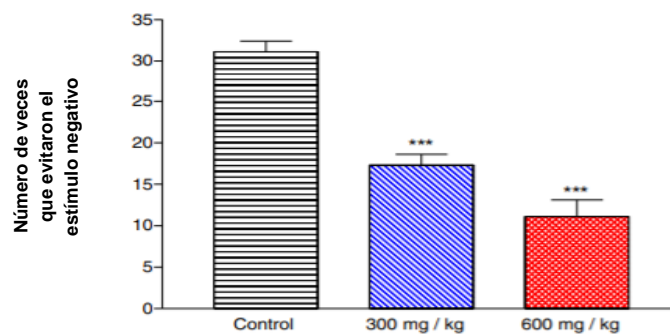


Figura. 11. Representación del número de veces que los animales de los distintos grupos estudiados evitaron el estímulo negativo. Siendo la columna blanca a rallas el grupo control, la azul el grupo que recibió la dosis de 300 mg/kg y la roja el tratado con 600 mg/kg. (Fuente: Taweel et al., 2012)

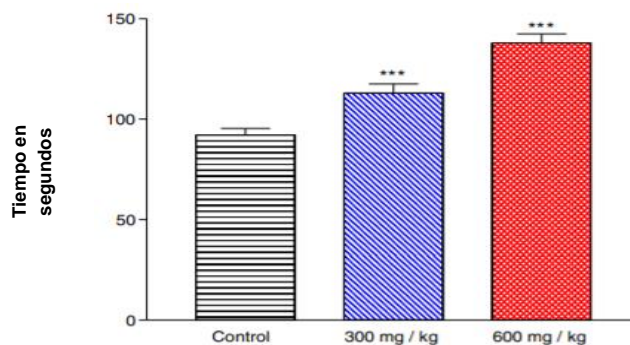


Figura 12. Representación del tiempo que tardó cada grupo en evitar el estímulo negativo. Siendo la columna blanca a rallas el grupo control, la azul el grupo que recibió la dosis de 300 mg/kg y la roja el tratado con 600 mg/kg. (Fuente: Taweel et al., 2012)

Zhang et al. (2014) realizaron también una prueba con una "shuttle box". Los animales fueron expuestos a una sal de Al, de la misma forma que en el estudio de Zhang et al. (2013). Tras el tratamiento con Al, fueron sometidos a una fase de entrenamiento. En la caja, el estímulo

condicionado era una luz y un sonido, mientras el no condicionado era una descarga eléctrica. Los estímulos se producían en intervalos, de modo que el primero que se manifestaba era el condicionado durante 10 segundos, y tras 4 segundos, se activaba el no condicionante con una duración de 5 segundos. Cada prueba duraba 20 ciclos y se les entrenó durante 5 días seguidos. Tras este periodo, se estableció una etapa de descanso de 7 días. Esto se realizó con la finalidad de repetir el ensayo y comprobar la memoria a largo plazo. Los resultados de este experimento fueron que tanto el tiempo que recibían la descarga, como el número de veces que la recibieron fue significativamente mayor en las tratadas con Al, estando además correlacionado directamente con la cantidad de dosis administrada a los animales.

Esto también se ha observado en otros estudios, en los que se ha indicado las mismas consecuencias de la exposición a este elemento, describiéndose además comportamientos depresivos (Shoji, 2018; Zhang, 2020), reducción de la interacción social (Sheth, 2018; Shoji, 2018) y disminución de la capacidad para reconocer objetos (Crépeaux, 2017; Farhat, 2016; Martinez, 2016; Zhang, 2018)

### **5.2.3 Efectos neurodegenerativos**

Para evaluar los efectos tóxicos que ejercía el Al sobre las células del tejido nervioso central Liaquat et al. (2019) dividieron en dos grupos 12 ratas albinas Wistar. El control recibió inyecciones vía intraperitoneal de suero salino y el otro grupo recibió por la misma vía una dosis de 150 mg/kg de  $AlCl_3$  durante 7 días. Después de este periodo, se sacrificaron y se les diseccionó la zona del hipocampo (en la zona CA1, CA3 y en el giro dentado (DG) y del córtex). Estas muestras se fijaron con formalina al 10% y fueron sumergidas en parafina para posteriormente realizarles cortes de 5  $\mu m$  de espesor. Tras fijarse con hematoxilina-esosina, fueron examinadas mediante microscopía a 400 aumentos. En los animales tratados con Al se observaron alteraciones histopatológicas. En la Figura 13 se puede observar una muestra del córtex, donde las membranas nucleares eran indistinguibles y las neuronas estaban encogidas y teñidas de oscuro.

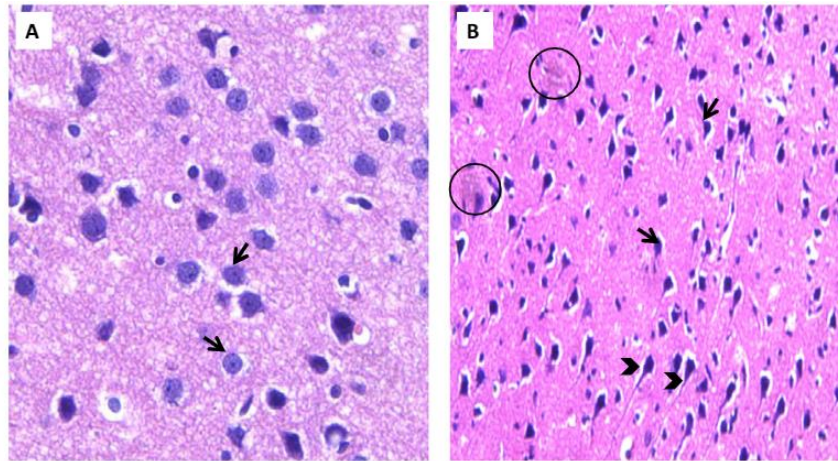


Figura 13. Cortes histológicas de las muestras de córtex cerebral. La Figura A corresponde a las muestras tomadas de animales control mientras que la Figura B pertenece a la de los tratados con  $AlCl_3$ . (Fuente: Liaquat et al., 2019)

Respecto a la zona del hipocampo, en los animales control no se apreciaron daños. Sin embargo, las tratadas con sales de Al presentaron una neurodegeneración marcada por la tinción de morado a magenta en núcleos elongados irregulares y citoplasmas encogidos tal y como se observa en la Figura 14.

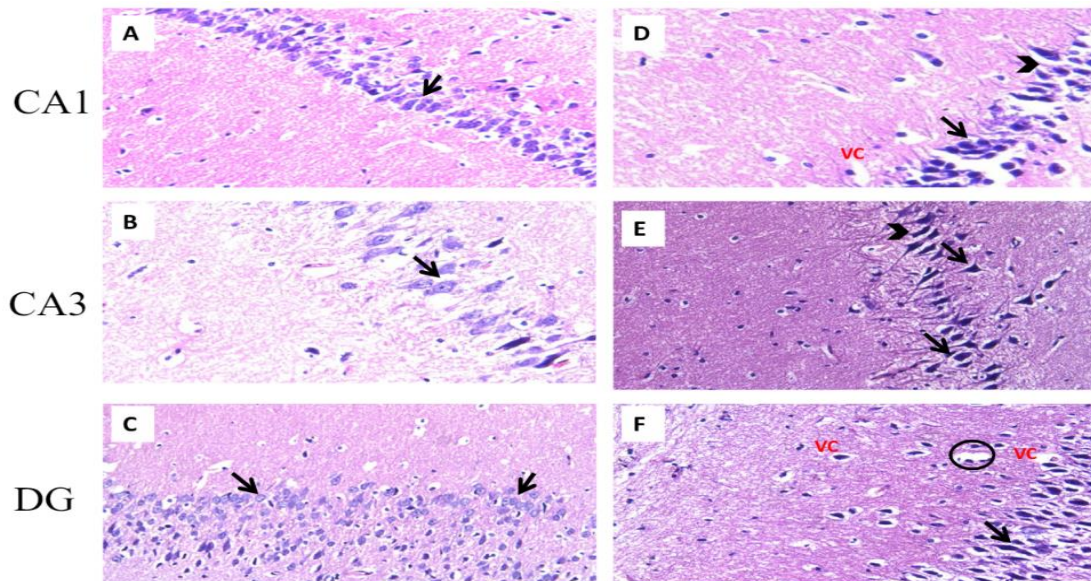


Figura 14. Cortes histológicas de muestras de hipocampo de las zonas CA1, CA3 y del giro dentado. Las imágenes A,D y C se corresponden a las control y las D, E y F a las de los animales expuestos a  $AlCl_3$ . (Fuente: Liaquat et al., 2019)

Las alteraciones morfológicas y estructurales del hipocampo en ratas fueron investigadas por Yan et al. (2017). Para ello seleccionaron 40 ratas Wistar (50% machos y 50% hembras), se reprodujeron y al nacer las crías, se dividieron en cuatro grupos en función de la dosis suministrada en el agua de bebida. El control recibió agua destilada únicamente, y los tres

grupos restantes bebieron agua con una concentración de  $\text{AlCl}_3$  de 0.2%, 0.4% y 0.6%. Las crías fueron expuestas al Al en primer lugar a través de la lactación, y después a través del agua de bebida hasta los tres meses y medio de vida. Transcurrido este tiempo los animales fueron sacrificados. Las muestras se examinaron en el microscopio electrónico de transmisión.

En la Figura 15 se pueden observar las muestras procedentes de la zona CA1 del hipocampo. En los animales control, las células nerviosas se encuentran dispuestas en orden, con buena densidad y la mayoría tienen forma poligonal con multitud de dendritas. A mayor dosis de  $\text{AlCl}_3$  se aprecia mayor irregularidad en las células, condensación de la cromatina en el núcleo, degeneración vacuolar y la capa de células piramidales se tornó más fina.

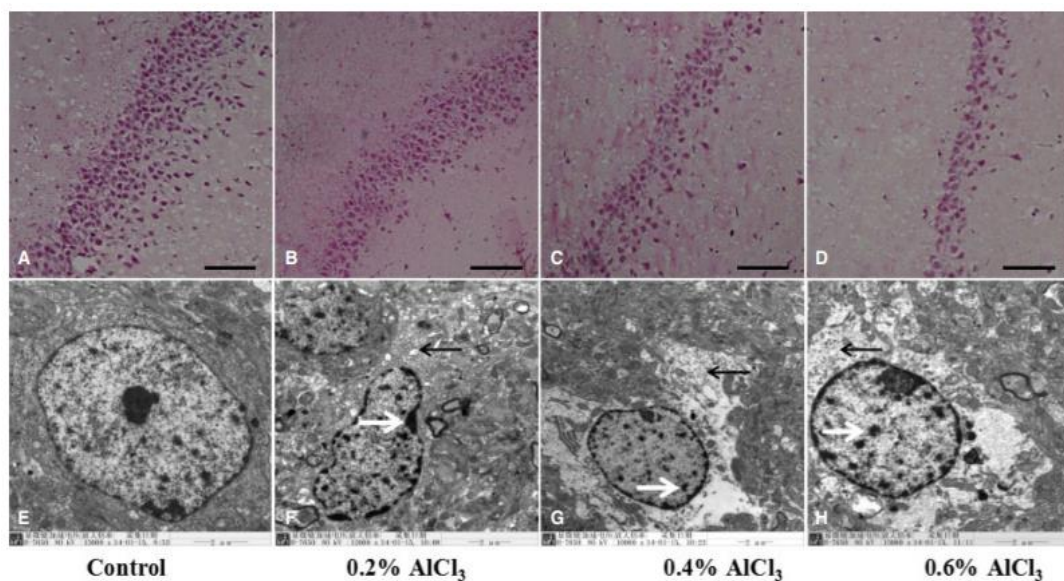


Figura 15. Imágenes de muestras de la zona CA1 del hipocampo al microscopio óptico (A-D) y al microscopio electrónico de transmisión (E-H). En las imágenes F, G y H las flechas blancas señalan la heterocromatina y las flechas negras orgánulos vacuolados. (Fuente: Yan et al., 2018)

Estos resultados concuerdan también con los obtenidos por Hong Wang et al. (2015). En este caso investigaron los cambios morfológicos en las células del hipocampo, tras una exposición crónica al gluconato de aluminio. Para este estudio, se empleó un total de 34 ratas Sprague Dawley de 8 semanas de vida. Se dividieron en dos grupos, el control y el tratado con Al. A los animales tratados se les administró por vía intragástrica 200 mg/kg de gluconato de aluminio por día, 5 veces a la semana durante 20 semanas. Al grupo control se le suministró el mismo volumen, pero de gluconato de sodio.

Tras 6 días desde la última dosis de gluconato de aluminio, se seleccionaron cuatro ratas de cada grupo para tomar muestras de la zona CA1 del hipocampo. Las muestras presentaban un grosor

de 5  $\mu\text{m}$  y se tiñeron con hematoxilina-eosina para poder visualizarlas al microscopio óptico a 400 aumentos. De cada muestra se contaron 10 campos y se contabilizó el número de células intactas y de muertas o lesionadas (identificándose por tener el citoplasma eosinófilo, núcleos picnóticos con la cromatina muy condensada y por la desaparición de nucleolos).

En la Figura 16a se observa cómo las células del grupo control se encuentran bien estructuradas, estrechamente dispuestas y su estructura morfológica está intacta. En cambio, en el grupo tratado con Al se pudo apreciar una marcada condensación irreversible de la cromatina en el núcleo (signo de necrosis o apoptosis) y una menor densidad celular. Por otro lado, en la Figura 16b se presenta un mayor porcentaje de células muertas vistas por campo en las muestras procedentes de los animales tratados con esta sal de Al.

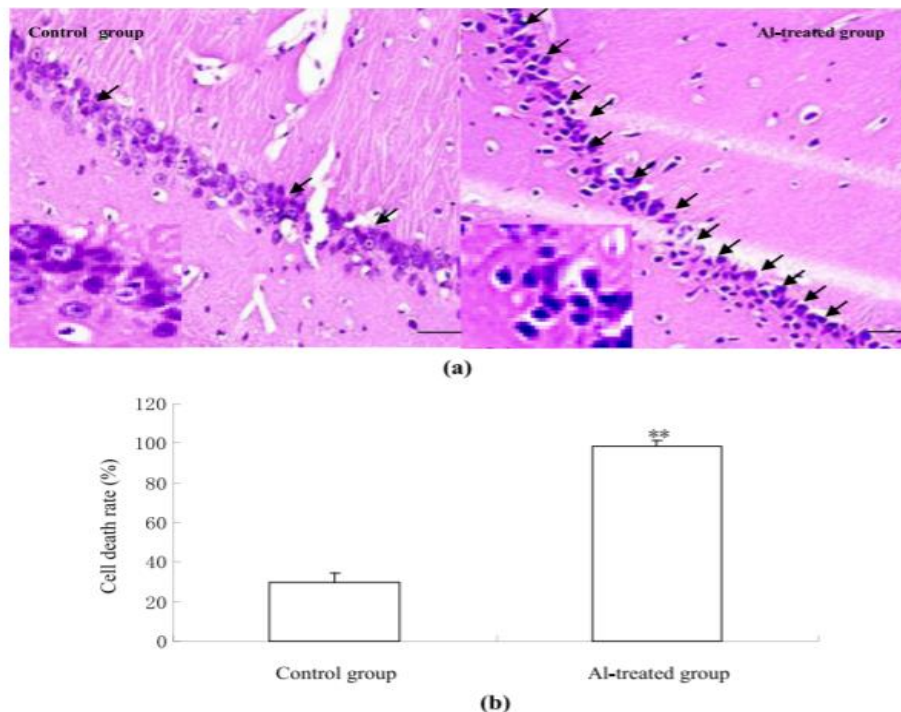


Figura 16. (a) Cambios estructurales producidos en la zona CA1 del hipocampo en el grupo control y el grupo tratado con gluconato de aluminio. Tomada mediante microscopía óptica a 400x de un individuo de cada grupo estudiado. Las flechas negras marcan la condensación irreversible de cromatina. (b) Tasa de muerte celular expresada en porcentaje del grupo control y del tratado con la sal de aluminio. (Fuente: Wang et al., 2015)

En otro ensayo de Çabuş et al. (2014) estudiaron también el índice apoptótico y el número de neuronas existentes en animales tratados con sulfato de aluminio. Para este ensayo se escogieron 24 ratas albinas Wistar hembras y se dividieron en tres grupos: el control, el de tratamiento simulado (1ml de solución salina al 0,9% vía intraperitoneal) y el tratado con aluminio (3mg/ml de sulfato de aluminio en solución salina por la misma vía). El tratamiento

duró dos semanas, tras este tiempo los animales se sacrificaron y se tomaron muestras del cerebro. Una parte fue teñida con eosina-nigrosina para examinarlas al microscopio a 100 aumentos, y la otra se fijó y procesó para el marcado de final de corte de dUTP de Terminal deoxinucleotidil transferasa (TUNEL) con la finalidad de detectar el índice apoptótico.

El recuento de neuronas se realizó en  $250 \mu\text{m}^2$ . En la Figura 17 se observa el número de neuronas contadas en el hipocampo. En el grupo control se detectaron alrededor de 256.939 células mientras que, en el grupo del tratamiento simulado, 232.392. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos. No obstante, en el tratado con Al se pudo apreciar una diferencia importante en el número de células, que fue de 179.890.

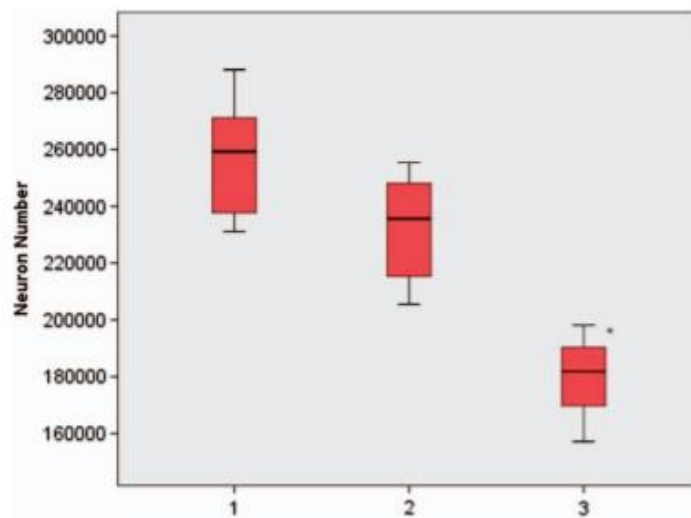


Figura 17. Número de neuronas del hipocampo contadas en  $250 \mu\text{m}^2$ . Siendo (el grupo control=1, grupo tratamiento simulado =2 y grupo tratado con sulfato de aluminio=3. (Fuente: Çabuş et al., 2014)

Los resultados del ensayo TUNEL aparecen representados en la Figura 18, donde aparece expresado el porcentaje del número de células apoptóticas. El índice apoptótico fue del 5.84% en el grupo control en comparación con el tratamiento simulado, que obtuvo un 8.05% y el expuesto al Al alcanzó un 22.75%.

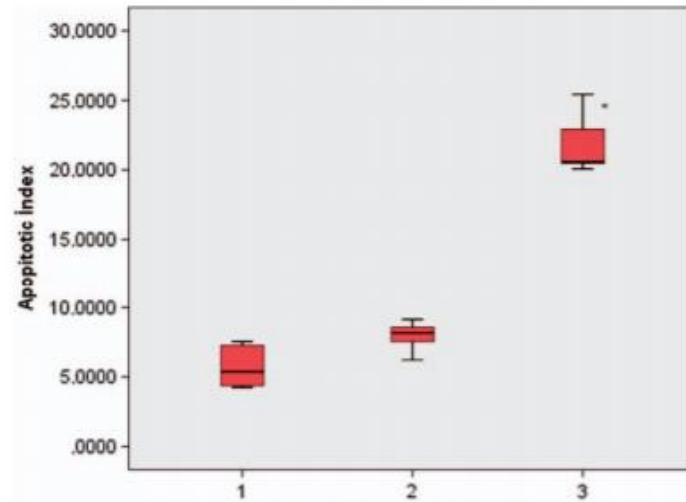


Figura 18. Índice de neuronas apoptóticas en el hipocampo, Siendo (el grupo control=1, grupo tratamiento simulado =2 y grupo tratado con sulfato de aluminio=3. (Fuente: Çabuş et al., 2014)

Al igual que en otros estudios (Li, 2020; Chen, 2013; Inohana, 2018; Wang, 2014) se ha señalado que el tratamiento con Al provocaría una disminución en el volumen de células y también en el porcentaje de células apoptóticas en el cerebro.

#### 5.2.4 Efectos en los sistemas oxidativos

##### Citocromo c oxidasa

Para estudiar la actividad del citocromo c oxidasa tras la administración de  $AlCl_3$ , Stevanovic et al. (2013) escogieron 40 ratas macho Wistar. Se dividieron en dos grupos, el control y el tratado con Al. Este grupo a su vez, fue subdividido en 2. Un subgrupo recibió una sola dosis y fueron sacrificados a los 10 minutos. El otro fue tratado durante 3 días, antes de ser eutanasiados. Todos los animales fueron anestesiados para inyectarles el tratamiento directamente en el sector CA1 del hipocampo. Ambos subgrupos recibieron una dosis de  $3.7 \times 10^{-4}$  g/kg diluido en 0.01ml de agua desionizada, mientras que al grupo control se le administró el mismo volumen pero de solución salina al 0.9%. La actividad del citocromo c oxidasa se midió mediante la disminución de la absorbancia por la oxidación del citocromo c ferroso a citocromo c férrico.

En la Figura 19, se muestra la actividad de la citocromo c oxidasa. Los resultados que aparecen en la Figura 19 a y b mostraron que la actividad del citocromo c oxidasa disminuyó significativamente en diferentes partes del cerebro, y no únicamente en el hipocampo tanto para los que recibieron una sola dosis, como en los tratados durante 3 días en comparación al control.

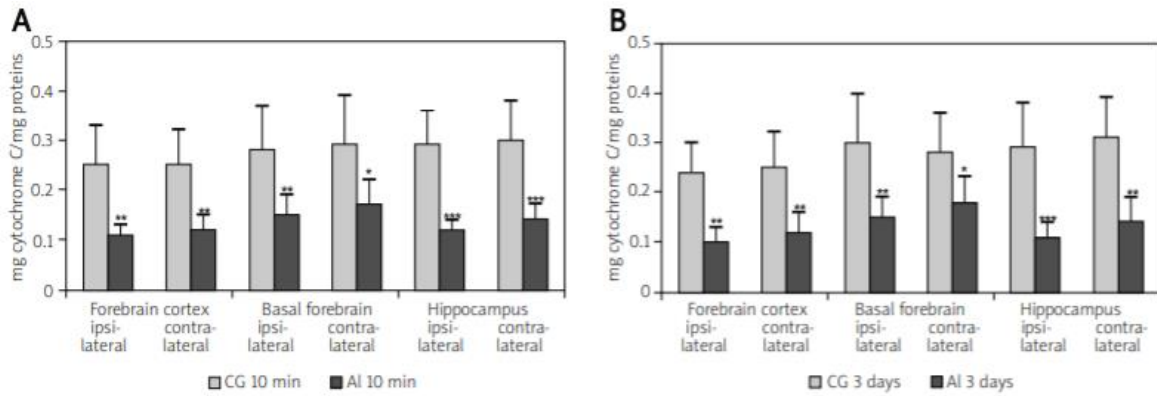


Figura 19. Actividad del citocromo c oxidasa expresado en mg citocromo c/mg proteínas en distintas partes del cerebro. A (Comparación de la activada de la citocromo -c oxidasa entre el grupo control "CG 10 min" y el grupo tratado con aluminio una sola vez "Al 10 min"). B. (Comparación de la activada de la citocromo -c oxidasa entre el grupo control "CG 3 days" y el grupo tratado con aluminio durante tres días "Al 3 days") (Fuente: Stevanović et al., 2013)

Vučetić-Arsić et al. (2013) estudiaron también los efectos producidos en el citocromo tras la exposición oral de Al. Para ello emplearon gerbos mongoles macho, 60 de ellos se dividieron en dos grupos, uno de ellos recibió una dosis de 1.96g/kg (grupo LD<sub>25</sub>, siendo esta la dosis letal para el 25% de los individuos) y el otro de 3.7g/kg (grupo LD<sub>50</sub>, dosis letal para el 50% de animales) de cloruro de aluminio hexahidratado. Para poder establecer una buena comparación entre grupos, hubo un grupo control compuesto por 30 animales, los cuales recibieron el mismo volumen pero de suero salino. Se sacrificaron algunos individuos a las 2, 6 y 24 horas después del tratamiento. Además se incluyó otro grupo que se expuso de forma subaguda (0.74g/kg) durante 21 días (grupo LD<sub>10</sub>, dosis letal para el 10% de la población). La citocromo c oxidasa se midió mediante espectrofotometría en las zonas del córtex, hipocampo, tálamo y núcleo caudado.

En la Figura 20 se pueden observar los niveles de citocromo c oxidasa. La actividad del citocromo no se modificó en la corteza y en el núcleo caudado tras las 2 horas de la administración, pero sí que hubo una pequeña disminución en hipocampo y tálamo. Tras 6 horas, los grupos LD<sub>25</sub> presentaron un aumento en la citocromo en todas las estructuras estudiadas. En los grupos LD<sub>50</sub> hubo también un aumento en el tálamo y en el núcleo caudado aunque en la corteza se vio disminuida. Tras 24 horas, la actividad en este caso seguía aumentando en la corteza y el tálamo, pero disminuía tanto en el hipocampo como en el núcleo caudado cuando se aplicó LD<sub>25</sub>. En ese mismo momento, el grupo LD<sub>50</sub> presentó una disminución de la actividad de la citocromo en todas las estructuras excepto en la corteza donde no se apreció cambio alguno.

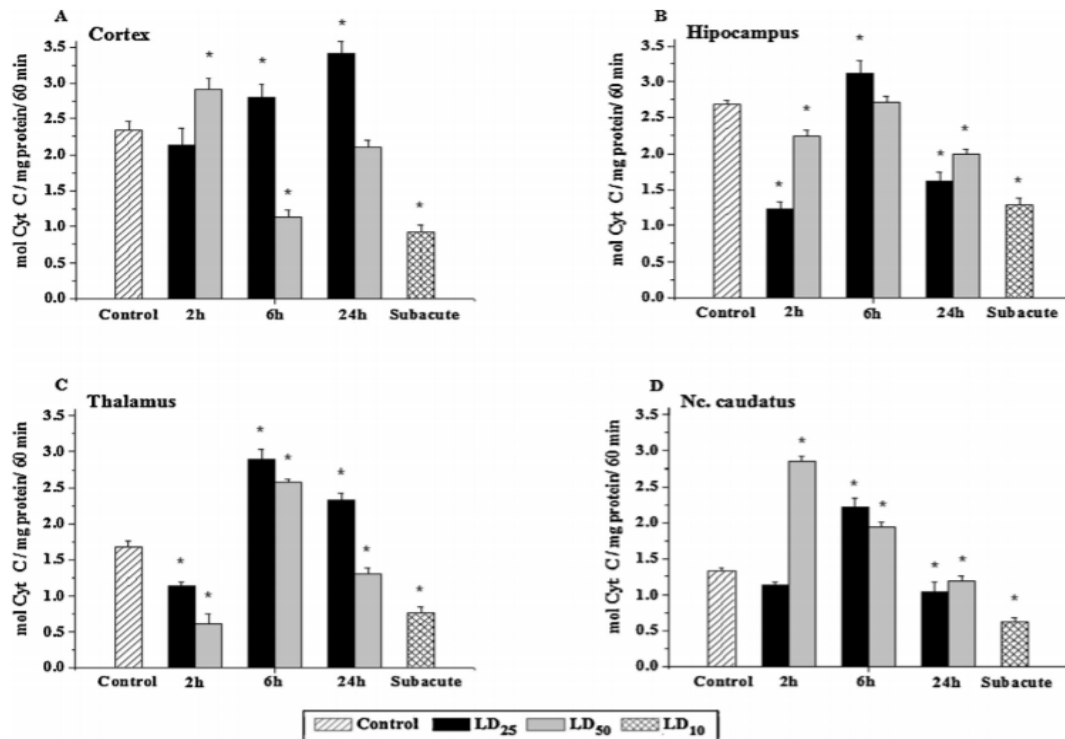


Figura 20. Actividad del citocromo c oxidasa en los distintos grupos estudiados en función de la duración del tiempo de exposición y en las distintas zonas analizadas. (Fuente: Vučetić-Arsić et al., 2021)

### Especies reactivas al oxígeno

Con la finalidad de medir las especies reactivas al oxígeno (ROS) tras una exposición crónica, Sharma et al. (2013) utilizaron ratas albino macho Wistar. El grupo control constaba de 6 ratas que recibieron agua destilada para beber. El grupo de estudio formado por otras 6 ratas, recibieron lactato de aluminio a una dosis de 10mg/kg al día durante 12 semanas. Después de este periodo se sacrificaron, y se diseccionó el tejido del hipocampo y del cuerpo estriado, para después aislar las mitocondrias del cerebro de las ratas. Los resultados mostraron un aumento significativo del ROS en el hipocampo (69.44%) y en el cuerpo estriado (62.5%) al compararlos con el grupo control.

Estos mismos efectos fueron estudiados por Mirshafa et al. (2017) a partir de 60 ratas Wistar, quienes las dividieron en grupos de 6. Uno fue el control, y a los 9 restantes se les administró diferentes dosis (2, 4, 8 mg/kg) de distintas formas de Al (aluminio, Al BP; nanopartículas de Al menores a 1000nm, Al MP; micropartículas menores a 100nm, Al NP) durante 28 días. Transcurrido el tiempo de ensayo, se eutanasiaron y se aislaron las mitocondrias para medir, mediante fluorescencia la actividad de ROS. Los resultados obtenidos se exponen en la gráfica

de la Figura 21, donde se observa un aumento en la generación de ROS el cual es dosis dependiente. Además, hubo un marcado aumento en la formación de ROS a los 8mg/kg tanto en el caso del Al BP como en Al MP.

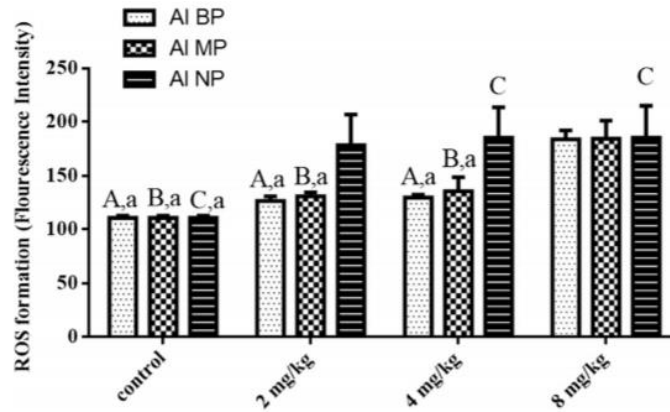


Figura 21. Formación de ROS en cada uno de los grupos animales estudiados tras la administración de distintas dosis tras los 28 días de tratamiento. (Fuente: Mirshafa et al., 2017)

Para determinar las capacidades de defensa del cerebro tras una exposición aguda de Al, Milovanovic et al. (2013) estudiaron los efectos en la actividad de la superóxido dismutasa (SOD). Para ello escogieron ratones del desierto adultos, de ambos sexos y se les dividió en tres grupos, el control, el LD<sub>25</sub> y el LD<sub>50</sub>, siendo este último de 3.7g/kg de AlCl<sub>3</sub>. Se administró a todos la dosis en 0,4ml de solución por animal. Para el control se usó una solución salina. Fueron sacrificados a las dos horas. Se aisló el hipocampo, el córtex y el núcleo caudado. En estos tejidos se midió la actividad de la SOD como el porcentaje de inhibición de la autoxidación de la epinefrina, tanto de forma total, como aislada en las mitocondrias.

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en el córtex, donde se muestra una disminución significativa del SOD en el grupo LD<sub>25</sub> y un incremento en el caso del grupo LD<sub>50</sub>.

Group	Total SOD X SD	Mitochondrial SOD X SD
Control	22012 ± 1521	14578 ± 1372
LD <sub>25</sub>	11810 ± 1578	5932 ± 1270
LD <sub>50</sub>	32548 ± 1329	22053 ± 4150

Tabla 2. Actividad de SOD en el córtex de los distintos grupos de animales tras la administración aguda de aluminio vía intraperitoneal. (Fuente: Milovanovic et al., 2013)

En la Tabla 3 se reflejan los datos obtenidos del hipocampo, mostrando similitud con los anteriores, estando muy disminuida la actividad de SOD en el grupo LD<sub>25</sub> y algo aumentada en el caso del LD<sub>50</sub>.

Group	Total SOD X SD	Mitochondrial SOD X SD
Control	24500 ± 1685	17757 ± 579
LD <sub>25</sub>	12668 ± 2037	7037 ± 1696
LD <sub>50</sub>	34559 ± 1494	20912 ± 2124

Tabla 3. Actividad de SOD en el hipocampo de los distintos grupos de animales tras la administración aguda de aluminio vía intraperitoneal. (Fuente: Milovanovic et al., 2013)

En la Tabla 4 aparecen los valores de la actividad de SOD en el núcleo caudado, en los cuales se aprecia que los resultados se corresponden a los obtenidos en las otras partes del cerebro examinadas.

Group	Total SOD X SD	Mitochondrial SOD X SD
Control	23520 ± 2417	15495 ± 1137
LD <sub>25</sub>	10001 ± 601	5202 ± 1042
LD <sub>50</sub>	35810 ± 6558	23655 ± 3334

Tabla 4. Actividad de SOD en el núcleo caudado de los distintos grupos de animales tras la administración aguda de aluminio vía intraperitoneal. (Fuente: Milovanovic et al., 2013)

### 5.3 Discusión

Los resultados arrojados por Zhang et al. (2013) reflejan cómo la administración de sales de aluminio vía digestiva a animales jóvenes hace que aumente su concentración en el hipocampo, estando directamente relacionado con la cantidad encontrada en sangre. El Al en sangre suele ir unido a proteínas como la transferrina t. La barrera hemato-encefálica parece ser que sería menos impermeable en estos animales jóvenes y, por tanto, el aluminio tendría mayor facilidad para pasar unido con estas proteínas. (Nagaoka y Maitani, 2005; Roskams y Connor, 1990).

Independientemente de la administración de grandes dosis, así como de la edad del individuo, su presencia se refleja en el hipocampo (Zhang et al., 2013). Fernandes et al. (2020) vieron que a pesar de no ser muy grande la cantidad administrada, es suficiente para cruzar la barrera hemato-encefálica y acumularse en el hipocampo. Además, Bhattacharjee et al. (2013) exponen la especial predilección por la acumulación de metales en el sistema nervioso central.

Nie et al. (2019) señalan que los animales tratados con la dosis más alta de  $\text{Al}(\text{mal})_3$  (1.62mg/kg) vía intraperitoneal presentan similares concentraciones durante 30, 60 y 90 días. Esto sugiere la posibilidad de que exista un umbral de acumulación en el cerebro, posiblemente relacionado con su capacidad de transporte de Al, aunque este fenómeno debería ser comprobado con más ensayos (Hichem et al. 2014). Además, también se aprecia cómo al aumentar el tiempo de exposición se incrementa su concentración. Sin embargo, ofrece cierta resistencia a partir de ciertos niveles, apoyando la idea anterior de que parece existir un umbral de acumulación (Nie et al., 2019).

Otra vía de absorción es la vía nasal, a través de la cual Liu et al. (2020) estudiaron la absorción del Nano- $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Los resultados sugieren que el nanoaluminio se adhiere a la mucosa nasal y es transportado por los nervios olfatorios hasta el parénquima cerebral. Razón por la cual, se observa una mayor cantidad acumulada en el bulbo olfatorio. El nanoaluminio debido a su pequeño tamaño tiene mayor facilidad para atravesar membranas celulares, por lo que cuanto menor sea el tamaño de partícula del aluminio, mayor será su acumulación y toxicidad (Liu et al., 2020).

El hipocampo es muy importante para procesar la información y está relacionado con funciones cognitivas, la memoria, y la memoria espacial, tanto su adquisición como asimilación (Drago et al., 2008). Los resultados de Liang et al. (2012) muestran cómo incluso, a dosis bajas, el efecto es marcado en cuanto a pérdida de memoria espacial ya que el hecho de nadar estos animales menos tiempo en el sector en el que se encontraba la plataforma indica que no recordaban dónde se situaba. Este efecto también se observa en el ensayo llevado a cabo por Zhang et al.

(2013) en el que a pesar de haber estado 7 días sin hacer la prueba del laberinto de Morris, los animales control encuentran con mayor facilidad la plataforma que los tratados con Al, empeorándose a mayor dosis de aluminio.

Es sabido que el Al es capaz de atravesar la placenta y es eliminado a través de la leche, pudiendo afectar a las crías, siendo este periodo de especial vulnerabilidad en el cerebro (Yumoto et al., 2001). Taweel et al. (2012), al realizar el estudio con madres gestantes y posteriormente con las crías, confirman la transmisión de Al de las madres a las crías. Estas muestran dificultades e invierten más tiempo a la hora de encontrar la plataforma. Además, en la prueba “shuttle box”, los animales tratados con sales de Al tardaron más tiempo en evitar el estímulo negativo y lo evadieron menor número de veces. Estos datos y los proporcionados también por Zhang et al. (2014) dejan ver que a mayor dosis, independientemente de la vía de administración, existe un empeoramiento de la memoria espacial.

El hipocampo y el córtex son las zonas más susceptibles de exponerse a los efectos del Al (S. Kumar, 2002). Liaquat et al. (2019) en sus resultados de las histopatologías realizadas en los animales tratados con Al ven claros signos de daño neuronal, como núcleos mal definidos e irregulares, neuronas encogidas y de color oscuro. Estas características también fueron vistas por Yan et al. (2017) donde a mayor dosis de Al, mayor degeneración neuronal se apreciaba en los cortes del hipocampo.

Hong Wang et al. (2015) evaluaron estos efectos pero en animales tratados de manera crónica, en este caso 20 semanas. Los mismos signos son observados. Además, al medir la tasa de muerte celular, esta fue aproximadamente tres veces mayor que en los animales control. Çabuş et al. (2014) midieron parámetros como el índice apoptótico y el número de células presentes en el hipocampo. Los animales tratados presentaron alrededor de un 30% menos de neuronas en el hipocampo y el número de neuronas apoptóticas fue el triple. Los animales que recibieron un tratamiento simulado presentaron ligeras alteraciones en los valores. Esto probablemente sea debido a la situación de estrés que supuso la administración del suero, por lo que existiría una influencia del estrés en los datos obtenidos, aunque no afecta en gran medida (Aminoff, 2015).

La principal vía por la que actúa el Al causando daño celular es por estrés oxidativo y produciendo una disminución de los sistemas de defensa antioxidante. Una acumulación de Al en el cerebro induce daños en membranas lipídicas, en las proteínas y en los sistemas de defensa antioxidantes, resultando en un estrés oxidativo (Sumathi et al. (2011)). El cerebro, al ser el mayor consumidor de oxígeno y al tener una menor capacidad de defensa contra agentes oxidativos, es especialmente susceptible a este daño (Kaizer et al., 2005).

Los principales generadores del desbalance oxidativo consecuentes a la acción del Al, se considera que es el mal funcionamiento de las mitocondrias y de la citocromo c oxidasa (Vučetić-Arsić et al., 2021). El ensayo realizado por Stevanovic et al. (2013) reflejó una disminución en la actividad de la citocromo c oxidasa en todos los tejidos analizados tras la administración del Al. Esto sugiere que es capaz de deteriorar específicamente su actividad. Esta disminución de la actividad indica una deficiencia para tomar equivalentes de reducción y sugiere un estrés oxidativo. Este proceso parece que está causado por dos efectos, uno es porque se produce una menor síntesis de NADH y el otro es debido a que aumenta la peroxidación lipídica por el uso de equivalentes de reducción.

En el estudio de Vučetić-Arsić et al. (2013) se apoya la idea de que la citocromo c oxidasa sea el principal generador de estrés oxidativo después de administrar el Al. Sin embargo, en estructuras como la corteza y en el núcleo caudado, las células mostraron signos de estrés oxidativo aún cuando la actividad del citocromo no se modificó, lo cual podría deberse a la participación de otros radicales libres.

La neurodegeneración es uno de los efectos tóxicos del Al y en este caso está inducida por un desequilibrio de elementos como el hierro y en la producción de ROS (Wu et al. (2012)). Sharma et al. (2013) en su estudio demuestra que tras una administración crónica de Al, se elevan las ROS tanto en el hipocampo como en el cuerpo estriado entre un 70 y un 62 % respectivamente.

Las partículas de nanoaluminio dependen también de sus características físicas a la hora de ejercer su efecto tóxico, pues variará en función de su tamaño, forma, área de superficie, solubilidad, etc. El Al cuando se presenta en forma de partículas pequeñas penetra más fácilmente las membranas. Por ello, Mirshafa et al. (2017), en su estudio para ver las diferencias en la producción de ROS con distintos tamaños de Al, observaron que las micropartículas inducían una mayor producción y no había grandes diferencias entre las nanopartículas y las partículas normales de aluminio, dejando ver que hay un tamaño mínimo para tener esa facilidad de paso entre membranas. Además, las producciones de ROS se igualan con los distintos tamaño de Al administrados a altas dosis, lo cual se atribuye a la existencia de un límite máximo de producción de ROS.

Una de las claves para este daño tóxico es la disminución de las capacidades de defensa, como la SOD. Milovanovic et al. (2013) observaron en su estudio una disminución de la SOD tanto total como mitocondrial al aplicar la dosis LD<sub>25</sub>. Con esta dosis disminuyó alrededor de un 50-60% en las tres zonas analizadas (hipocampo, núcleo caudado y córtex). Esta reducción fue más notable en el SOD mitocondrial en comparación con el total, lo que indicaría que la SOD mitocondrial

presentaría una mayor sensibilidad al Al. Este hecho es relevante ya que las mitocondrias son las principales responsables de la generación de radicales libres. Sin embargo, con la dosis LD<sub>50</sub> se incrementó o varió poco la actividad de SOD. Esto podría deberse a que estos animales exhibieron una resistencia mucho mayor al Al o bien, que era un efecto transitorio, ya que en experimentos en los que se aplican las dosis de forma crónica no se aprecia este aumento. También se plantea en el estudio la posibilidad de que este efecto sea debido por algún efecto protector del Al<sup>3+</sup> no elucidado.

## 6. Conclusiones

La revisión bibliográfica ha puesto de manifiesto diferentes estudios en los que se refleja el efecto neurotóxico de las sales de aluminio especialmente en roedores. Se extraen las siguientes conclusiones:

- Independientemente de la vía de administración, el aluminio tiene afinidad por el sistema nervioso central donde se acumula, siendo el hipocampo una de las zonas de mayor depósito.
- A mayor acumulación de aluminio en el hipocampo, se produce una pérdida de las capacidades cognitivas del individuo, especialmente de la memoria espacial.
- A nivel histológico, el aluminio provoca degeneración neuronal, menor densidad celular e incremento en el índice de apoptosis.
- El estrés oxidativo causado por el aluminio se refleja en una reducción de la actividad de la citocromo c oxidada y de la superóxido dismutasa así como en un aumento de los radicales libres de oxígeno, haciendo más vulnerable al sistema nervioso.

## 7. Bibliografía

- 1.- Abu-Taweel, G., Ajarem, J., & Ahmad, M. (2012). Neurobehavioral toxic effects of perinatal oral exposure to aluminum on the developmental motor reflexes, learning, memory and brain neurotransmitters of mice offspring. *Pharmacology Biochemistry And Behavior*, 101(1), 49-56. doi: 10.1016/j.pbb.2011.11.003
- 2.- Ambegaokar, S., Roy, B., & Jackson, G. (2010). Neurodegenerative models in *Drosophila*: Polyglutamine disorders, Parkinson disease, and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology Of Disease*, 40(1), 29-39. doi: 10.1016/j.nbd.2010.05.026
- 3.- Aminoff, B. (2015). Not Calm and Aminoff Suffering Syndrome in Advanced Alzheimer's Disease. *American Journal Of Alzheimer's Disease & Other Dementiasr*, 31(2), 169-180. doi: 10.1177/1533317515598858
- 4.- Balasubramanyam, A., Sailaja, N., Mahboob, M., Rahman, M., Hussain, S., & Grover, P. (2009). In vivo genotoxicity assessment of aluminium oxide nanomaterials in rat peripheral blood cells using the comet assay and micronucleus test. *Mutagenesis*, 24(3), 245-251. doi: 10.1093/mutage/geb003
- 5.- Bhattacharjee, S., Zhao, Y., Hill, J., Culicchia, F., Kruck, T., Percy, M., & Lukiw, W. (2013). Selective accumulation of aluminum in cerebral arteries in Alzheimer's disease (AD). *Journal Of Inorganic Biochemistry*, 126, 35-37. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2013.05.007
- 6.- Bondy, S. (2014). Prolonged exposure to low levels of aluminum leads to changes associated with brain aging and neurodegeneration. *Toxicology*, 315, 1-7. doi: 10.1016/j.tox.2013.10.008
- 7.- Çabuş, N., Oğuz, E., Tufan, A., & Adigüzel, E. (2014). A histological study of toxic effects of aluminium sulfate on rat hippocampus. *Biotechnic & Histochemistry*, 90(2), 132-139. doi: 10.3109/10520295.2014.965277
- 8.- Cao, Z., Yang, X., Zhang, H., Wang, H., Huang, W., Xu, F., & Li, Y. (2016). Aluminum chloride induces neuroinflammation, loss of neuronal dendritic spine and cognition impairment in developing rat. *Chemosphere*, 151, 289-295. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.02.092
- 9.- Cao, Z., Yang, X., Zhang, H., Wang, H., Huang, W., Xu, F... & Li, Y. (2016). Aluminum chloride induces neuroinflammation, loss of neuronal dendritic spine and cognition impairment in developing rat. *Chemosphere*, 151, 289-295. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.02.092
- 10.-Chen, L., Yokel, R., Hennig, B., & Toborek, M. (2008). Manufactured Aluminum Oxide Nanoparticles Decrease Expression of Tight Junction Proteins in Brain Vasculature.

- Journal Of Neuroimmune Pharmacology, 3(4), 286-295. doi: 10.1007/s11481-008-9131-5
- 11.-Chen, S., Fan, C., Chiue, M., Chou, C., Chen, J., & Hseu, R. (2013). Hemodynamic and Neuropathological Analysis in Rats with Aluminum Trichloride-Induced Alzheimer's Disease. *Plos ONE*, 8(12), e82561. doi: 10.1371/journal.pone.0082561
  - 12.-Crépeaux, G., Eidi, H., David, M., Baba-Amer, Y., Tzavara, E., Giros, B... & Gherardi, R. (2017). Non-linear dose-response of aluminium hydroxide adjuvant particles: Selective low dose neurotoxicity. *Toxicology*, 375, 48-57. doi: 10.1016/j.tox.2016.11.018
  - 13.-da Silva Lima, D., da Silva Gomes, L., de Sousa Figueredo, E., de Godoi, M., Silva, E., da Silva Neri, H... & dos Santos, F. (2020). Aluminum exposure promotes histopathological and pro-oxidant damage to the prostate and gonads of male and female adult gerbils. *Experimental And Molecular Pathology*, 116, 104486. doi: 10.1016/j.yexmp.2020.104486
  - 14.-Drago, D., Cavaliere, A., Mascetra, N., Ciavardelli, D., Di Ilio, C., Zatta, P., & Sensi, S. (2008). Aluminum Modulates Effects of  $\beta$ Amyloid1–42 on Neuronal Calcium Homeostasis and Mitochondria Functioning and Is Altered in a Triple Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Rejuvenation Research*, 11(5), 861-871. doi: 10.1089/rej.2008.0761
  - 15.-ElMazoudy, R., & Bekhet, G. (2016). In ovo toxico-teratological effects of aluminum on embryonic chick heart and vascularization. *Environmental Science And Pollution Research*, 23(21), 21947-21956. doi: 10.1007/s11356-016-7461-z
  - 16.-Esquerre, N., Basso, L., Dubuquoy, C., Djouina, M., Chappard, D., Blanpied, C., & Body-Malapel, M. (2019). Aluminum Ingestion Promotes Colorectal Hypersensitivity in Rodents. *Cellular And Molecular Gastroenterology And Hepatology*, 7(1), 185-196. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.09.012
  - 17.-Exley, C. (2003). A biogeochemical cycle for aluminium?. *Journal Of Inorganic Biochemistry*, 97(1), 1-7. doi: 10.1016/s0162-0134(03)00274-5
  - 18.-Exley, C., & Mold, M. (2015). The binding, transport and fate of aluminium in biological cells. *Journal Of Trace Elements In Medicine And Biology*, 30, 90-95. doi: 10.1016/j.jtemb.2014.11.002
  - 19.-Farhat, S., Mahboob, A., Iqbal, G., & Ahmed, T. (2016). Aluminum-Induced Cholinergic Deficits in Different Brain Parts and Its Implications on Sociability and Cognitive Functions in Mouse. *Biological Trace Element Research*, 177(1), 115-121. doi: 10.1007/s12011-016-0856-3

- 20.-Fernandes, R., Corrêa, M., Aragão, W., Nascimento, P., Cartágenes, S., Rodrigues, C., & Lima, R. (2020). Preclinical evidences of aluminum-induced neurotoxicity in hippocampus and pre-frontal cortex of rats exposed to low doses. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 206, 111139. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111139
- 21.-Fu, H., Hu, Q., Lin, Z., Ren, T., Song, H., Cai, C., & Dong, S. (2003). Aluminum-induced apoptosis in cultured cortical neurons and its effect on SAPK/JNK signal transduction pathway. *Brain Research*, 980(1), 11-23. doi: 10.1016/s0006-8993(03)02833-6
- 22.-Fulgenzi, A., Vietti, D., & Ferrero, M. (2014). Aluminium Involvement in Neurotoxicity. *Biomed Research International*, 2014, 1-5. doi: 10.1155/2014/758323
- 23.-Gómez, M., Esparza, J., Cabré, M., García, T., & Domingo, J. (2008). Aluminum exposure through the diet: Metal levels in A $\beta$ PP transgenic mice, a model for Alzheimer's disease. *Toxicology*, 249(2-3), 214-219. doi: 10.1016/j.tox.2008.05.004
- 24.-Gonçalves, P., & Silva, V. (2007). Does neurotransmission impairment accompany aluminium neurotoxicity? *Journal Of Inorganic Biochemistry*, 101(9), 1291-1338. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2007.06.002
- 25.-Gür, A., Çolpan, L., Nas, K., Çevik, R., Saraç, J., Erdoğan, F., & Düz, M. (2002). The role of trace minerals in the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis and a new effect of calcitonin. *Journal Of Bone And Mineral Metabolism*, 20(1), 39-43. doi: 10.1007/s774-002-8445-y
- 26.-Halliwell, B. (1992). Reactive Oxygen Species and the Central Nervous System. *Journal Of Neurochemistry*, 59(5), 1609-1623. doi: 10.1111/j.1471-4159.1992.tb10990.x
- 27.-Hichem, N., El May, M., Ladhari, N., Mrabet, A., & Gharbi, R. (2014). Aluminum chloride impacts dentate gyrus structure in male adult albino Wistar rats. *Tissue And Cell*, 46(6), 409-414. doi: 10.1016/j.tice.2014.05.006
- 28.-HUH, J., CHOI, M., LEE, J., YANG, S., KIM, M., CHOI, J... & CHO, S. (2005). Activation of monoamine oxidase isotypes by prolonged intake of aluminum in rat brain. *Journal Of Inorganic Biochemistry*, 99(10), 2088-2091. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2005.06.032
- 29.-Imen M'rad, Mustapha Jeljeli, Naima Rihane, Pascal Hilber, Mohsen Sakly, Salem Amara. (2018). Aluminium oxide nanoparticles compromise spatial learning and memory performance in rats. *EXCLI Journal*. doi: 10.17179/excli2017-1050
- 30.-Inohana, M., Eguchi, A., Nakamura, M., Nagahara, R., Onda, N., Nakajima, K... & Shibutani, M. (2018). Developmental Exposure to Aluminum Chloride Irreversibly Affects Postnatal Hippocampal Neurogenesis Involving Multiple Functions in Mice. *Toxicological Sciences*, 164(1), 264-277. doi: 10.1093/toxsci/kfy081

- 31.-Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B., & Beeregowda, K. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60-72. doi: 10.2478/intox-2014-0009
- 32.-Jomova, K., Vondrakova, D., Lawson, M., & Valko, M. (2010). Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Molecular And Cellular Biochemistry*, 345(1-2), 91-104. doi: 10.1007/s11010-010-0563-x
- 33.-Kaizer, R., Corrêa, M., Spanevello, R., Morsch, V., Mazzanti, C., Gonçalves, J., & Schetinger, M. (2005). Acetylcholinesterase activation and enhanced lipid peroxidation after long-term exposure to low levels of aluminum on different mouse brain regions. *Journal Of Inorganic Biochemistry*, 99(9), 1865-1870. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2005.06.015
- 34.-Kaneko, N., Yasui, H., Takada, J., Suzuki, K., & Sakurai, H. (2004). Orally administrated aluminum–maltolate complex enhances oxidative stress in the organs of mice. *Journal Of Inorganic Biochemistry*, 98(12), 2022-2031. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2004.09.008
- 35.-Kaur, A., Joshi, K., Minz, R., & Gill, K. (2006). Neurofilament phosphorylation and disruption: A possible mechanism of chronic aluminium toxicity in Wistar rats. *Toxicology*, 219(1-3), 1-10. doi: 10.1016/j.tox.2005.09.015
- 36.-Kidder, L., Klein, G., Gundberg, C., Seitz, P., Rubin, N., & Simmons, D. (1993). Effects of aluminum on rat bone cell populations. *Calcified Tissue International*, 53(5), 357-361. doi: 10.1007/bf01351843
- 37.-Kool, M., Fierens, K., & Lambrecht, B. (2012). Alum adjuvant: some of the tricks of the oldest adjuvant. *Journal Of Medical Microbiology*, 61(7), 927-934. doi: 10.1099/jmm.0.038943-0
- 38.-Kumar, S. (2002). Aluminium-induced changes in the rat brain serotonin system. *Food And Chemical Toxicology*, 40(12), 1875-1880. doi: 10.1016/s0278-6915(02)00180-1
- 39.-Kumar, V., & Gill, K. (2014). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in aluminium neurotoxicity and its amelioration: A review. *Neurotoxicology*, 41, 154-166. doi: 10.1016/j.neuro.2014.02.004
- 40.-Latha, K., Anitha, S., Rao, K., & Viswamitra, M. (2002). Molecular understanding of aluminum-induced topological changes in (CCG)<sub>12</sub> triplet repeats: relevance to neurological disorders. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis Of Disease*, 1588(1), 56-64. doi: 10.1016/s0925-4439(02)00133-3
- 41.-Li, H., Xue, X., Li, L., Li, Y., Wang, Y., Huang, T... & Niu, Q. (2020). Aluminum-Induced Synaptic Plasticity Impairment via PI3K-Akt-mTOR Signaling Pathway. *Neurotoxicity Research*, 37(4), 996-1008. doi: 10.1007/s12640-020-00165-5

- 42.-Li, X., Hu, C., Zhu, Y., Sun, H., Li, Y., & Zhang, Z. (2010). Effects of Aluminum Exposure on Bone Mineral Density, Mineral, and Trace Elements in Rats. *Biological Trace Element Research*, 143(1), 378-385. doi: 10.1007/s12011-010-8861-4
- 43.-LIANG, R., LI, W., WANG, X., ZHANG, H., WANG, H., WANG, J... & NIU, Q. (2012). Aluminium-Maltolate-induced Impairment of Learning, Memory and Hippocampal Long-term Potentiation in Rats. *Industrial Health*, 50(5), 428-436. doi: 10.2486/indhealth.ms1330
- 44.-Liaquat, L., Sadir, S., Batool, Z., Tabassum, S., Shahzad, S., Afzal, A., & Haider, S. (2019). Acute aluminum chloride toxicity revisited: Study on DNA damage and histopathological, biochemical and neurochemical alterations in rat brain. *Life Sciences*, 217, 202-211. doi: 10.1016/j.lfs.2018.12.009
- 45.-Liu, H., Zhang, W., Fang, Y., Yang, H., Tian, L., Li, K... & Xi, Z. (2020). Neurotoxicity of aluminum oxide nanoparticles and their mechanistic role in dopaminergic neuron injury involving p53-related pathways. *Journal Of Hazardous Materials*, 392, 122312. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122312
- 46.-Ma, L., Liu, J., Li, N., Wang, J., Duan, Y., Yan, J., & Hong, F. (2010). Oxidative stress in the brain of mice caused by translocated nanoparticulate TiO<sub>2</sub> delivered to the abdominal cavity. *Biomaterials*, 31(1), 99-105. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.09.028
- 47.-Ma, L., Liu, J., Li, N., Wang, J., Duan, Y., Yan, J... & Hong, F. (2010). Oxidative stress in the brain of mice caused by translocated nanoparticulate TiO<sub>2</sub> delivered to the abdominal cavity. *Biomaterials*, 31(1), 99-105. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.09.028
- 48.-Maquieira, Á., Brun, E., Garcés-García, M., & Puchades, R. (2012). Aluminum Oxide Nanoparticles as Carriers and Adjuvants for Eliciting Antibodies from Non-immunogenic Haptens. *Analytical Chemistry*, 84(21), 9340-9348. doi: 10.1021/ac3020998
- 49.-Martinez, C., Alterman, C., Peçanha, F., Vassallo, D., Mello-Carpes, P., Miguel, M., & Wiggers, G. (2016). Aluminum Exposure at Human Dietary Levels for 60 Days Reaches a Threshold Sufficient to Promote Memory Impairment in Rats. *Neurotoxicity Research*, 31(1), 20-30. doi: 10.1007/s12640-016-9656-y
- 50.-Martinez, C., Escobar, A., Uranga-Ocio, J., Peçanha, F., Vassallo, D., & Exley, C. et al. (2017). Aluminum exposure for 60 days at human dietary levels impairs spermatogenesis and sperm quality in rats. *Reproductive Toxicology*, 73, 128-141. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.08.008
- 51.-Milovanovic, A., Milovanovic, J., Konstatinovic, L., Vicentic, S., Pavlovic, B., Kojic, A... & Milovanovic, A. (2013). Oxido-reductive brain status after acute aluminium poisoning: The role of free radicals. *Acta Veterinaria*, 63(2-3), 145-157. doi: 10.2298/avb1303145m

- 52.-Mirshafa, A., Nazari, M., Jahani, D., & Shaki, F. (2017). Size-Dependent Neurotoxicity of Aluminum Oxide Particles: a Comparison Between Nano- and Micrometer Size on the Basis of Mitochondrial Oxidative Damage. *Biological Trace Element Research*, 183(2), 261-269. doi: 10.1007/s12011-017-1142-8
- 53.-Monteiro-Riviere, N., Oldenburg, S., & Inman, A. (2010). Interactions of aluminum nanoparticles with human epidermal keratinocytes. *Journal Of Applied Toxicology*, 30(3), 276-285. doi: 10.1002/jat.1494
- 54.-Nagaoka, M., & Maitani, T. (2005). Binding affinity of aluminium to human serum transferrin and effects of carbohydrate chain modification as studied by HPLC/high-resolution ICP-MS. *Journal Of Inorganic Biochemistry*, 99(9), 1887-1894. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2005.06.034
- 55.-Nie, J., Lv, S., Fu, X., & Niu, Q. (2019). Effects of Al Exposure on Mitochondrial Dynamics in Rat Hippocampus. *Neurotoxicity Research*, 36(2), 334-346. doi: 10.1007/s12640-019-00045-7
- 56.-Niu, Q. (2018). Overview of the Relationship Between Aluminum Exposure and Health of Human Being. *Advances In Experimental Medicine And Biology*, 1-31. doi: 10.1007/978-981-13-1370-7\_1
- 57.-Parhad, I., Krekoski, C., Mathew, A., & Tran, P. (1989). Neuronal gene expression in aluminum myelopathy. *Cellular And Molecular Neurobiology*, 9(1), 123-138. doi: 10.1007/bf00711449
- 58.-Patlolla, A., Berry, A., & Tchounwou, P. (2011). Study of hepatotoxicity and oxidative stress in male Swiss-Webster mice exposed to functionalized multi-walled carbon nanotubes. *Molecular And Cellular Biochemistry*, 358(1-2), 189-199. doi: 10.1007/s11010-011-0934-y
- 59.-Paz, L., Moura, L., Feio, D., Cardoso, M., Ximenes, W., Montenegro, R... & Lima, P. (2017). Evaluation of in vivo and in vitro toxicological and genotoxic potential of aluminum chloride. *Chemosphere*, 175, 130-137. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.02.011
- 60.-Perl, D., & Good, P. (1987). UPTAKE OF ALUMINIUM INTO CENTRAL NERVOUS SYSTEM ALONG NASAL-OLFACTORY PATHWAYS. *The Lancet*, 329(8540), 1028. doi: 10.1016/s0140-6736(87)92288-4
- 61.-Peto, M. (2010). Aluminium and Iron in Humans: Bioaccumulation, Pathology, and Removal. *Rejuvenation Research*, 13(5), 589-598. doi: 10.1089/rej.2009.0995
- 62.-Piemonte, F., Rossi, F., & Carletti, B. (2011). Neuroprotection: The Emerging Concept of Restorative Neural Stem Cell Biology for the Treatment of Neurodegenerative Diseases. *Current Neuropharmacology*, 9(2), 313-317. doi: 10.2174/157015911795596603

- 63.-Prabhakar, P., Reddy, U., Singh, S., Balasubramanyam, A., Rahman, M., Indu Kumari, S... & Mahboob, M. (2011). Oxidative stress induced by aluminum oxide nanomaterials after acute oral treatment in Wistar rats. *Journal Of Applied Toxicology*, 32(6), 436-445. doi: 10.1002/jat.1775
- 64.-Rengel, Z. (2004). Aluminium cycling in the soil-plant-animal-human continuum. *Biometals*, 17(6), 669-689. doi: 10.1007/s10534-004-1201-4
- 65.-Rodriguez, M., Felsenfeld, A., & Llach, F. (1990). Aluminum administration in the Rat separately affects the osteoblast and Bone mineralization. *Journal Of Bone And Mineral Research*, 5(1), 59-67. doi: 10.1002/jbmr.5650050110
- 66.-Roskams, A., & Connor, J. (1990). Aluminum access to the brain: a role for transferrin and its receptor. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 87(22), 9024-9027. doi: 10.1073/pnas.87.22.9024
- 67.-SCHEER. (2021). Recuperado de: [https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/scientific\\_committees/scheer/docs/scheer\\_o\\_009.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/scientific_committees/scheer/docs/scheer_o_009.pdf)
- 68.-Sharma, D., Sunkaria, A., Wani, W., Sharma, R., Kandimalla, R., Bal, A., & Gill, K. (2013). Aluminium induced oxidative stress results in decreased mitochondrial biogenesis via modulation of PGC-1 $\alpha$  expression. *Toxicology And Applied Pharmacology*, 273(2), 365-380. doi: 10.1016/j.taap.2013.09.012
- 69.-Sheth, S., Li, Y., & Shaw, C. (2018). Is exposure to aluminium adjuvants associated with social impairments in mice? A pilot study. *Journal Of Inorganic Biochemistry*, 181, 96-103. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2017.11.012
- 70.-Shoji, H., Irino, Y., Yoshida, M., & Miyakawa, T. (2018). Behavioral effects of long-term oral administration of aluminum ammonium sulfate in male and female C57BL/6J mice. *Neuropsychopharmacology Reports*, 38(1), 18-36. doi: 10.1002/npr2.12002
- 71.-Silva Lima, D., da Silva Gomes, L., de Sousa Figueredo, E., de Godoi, M., Silva, E., da Silva Neri, H., & dos Santos, F. (2020). Aluminum exposure promotes histopathological and pro-oxidant damage to the prostate and gonads of male and female adult gerbils. *Experimental And Molecular Pathology*, 116, 104486. doi: 10.1016/j.yexmp.2020.104486
- 72.-Stevanović, I., Jovanović, M., Čolić, M., Ninković, M., Jelenković, A., & Mihajlović, R. (2013). Original article Cytochrome C oxidase activity and nitric oxide synthase in the rat brain following aluminium intracerebral application. *Folia Neuropathologica*, 2, 140-146. doi: 10.5114/fn.2013.35957

- 73.-Sumathi, T., Shobana, C., Kumari, B., & Nandhini, D. (2011). Protective Role of *Cynodon dactylon* in Ameliorating the Aluminium-Induced Neurotoxicity in Rat Brain Regions. *Biological Trace Element Research*, 144(1-3), 843-853. doi: 10.1007/s12011-011-9029-6
- 74.-Teeling, J., & Perry, V. (2009). Systemic infection and inflammation in acute CNS injury and chronic neurodegeneration: Underlying mechanisms. *Neuroscience*, 158(3), 1062-1073. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.07.031
- 75.-Türkez, H., & Toğar, B. (2012). Aluminum phosphide-induced genetic and oxidative damages in rats: attenuation by *Laurus nobilis* leaf extract. *Toxicology And Industrial Health*, 29(7), 579-583. doi: 10.1177/0748233711433942
- 76.-Vignal, C., Desreumaux, P., & Body-Malapel, M. (2016). Gut: An underestimated target organ for Aluminum. *Morphologie*, 100(329), 75-84. doi: 10.1016/j.morpho.2016.01.003
- 77.-Vučetić-Arsić, S., Radonjić, N., Jovanović, M., Selaković, V., Nikolić, T... & Velimirović, M. (2013). Oxidative stress precedes mitochondrial dysfunction in gerbil brain after aluminum ingestion. *Environmental Toxicology And Pharmacology*, 36(3), 1242-1252. doi: 10.1016/j.etap.2013.10.008
- 78.-Walton, J. (2007). A longitudinal study of rats chronically exposed to aluminum at human dietary levels. *Neuroscience Letters*, 412(1), 29-33. doi: 10.1016/j.neulet.2006.08.093
- 79.-Wang, B., Xing, W., Zhao, Y., & Deng, X. (2010). Effects of chronic aluminum exposure on memory through multiple signal transduction pathways. *Environmental Toxicology And Pharmacology*, 29(3), 308-313. doi: 10.1016/j.etap.2010.03.007
- 80.-Wang, H., Ye, M., Yu, L., Wang, J., Guo, Y., Lei, W., & Yang, J. (2015). Hippocampal neuronal cyclooxygenase-2 downstream signaling imbalance in a rat model of chronic aluminium gluconate administration. *Behavioral And Brain Functions*, 11(1), 8. doi: 10.1186/s12993-015-0054-z
- 81.-Wang, L., Hu, J., Zhao, Y., Lu, X., Zhang, Q., & Niu, Q. (2014). Effects of Aluminium on  $\beta$ -Amyloid (1-42) and Secretases (APP-Cleaving Enzymes) in Rat Brain. *Neurochemical Research*, 39(7), 1338-1345. doi: 10.1007/s11064-014-1317-z
- 82.-Weisser, K., Göen, T., Oduro, J., Wangorsch, G., Hanschmann, K., & Keller-Stanislawski, B. (2018). Aluminium toxicokinetics after intramuscular, subcutaneous, and intravenous injection of Al citrate solution in rats. *Archives Of Toxicology*, 93(1), 37-47. doi: 10.1007/s00204-018-2323-8
- 83.-Willhite, C., Karyakina, N., Yokel, R., Yenugadhati, N., Wisniewski, T., & Arnold, I. et al. (2014). Systematic review of potential health risks posed by pharmaceutical, occupational and consumer exposures to metallic and nanoscale aluminum, aluminum

- oxides, aluminum hydroxide and its soluble salts. *Critical Reviews In Toxicology*, 44(sup4), 1-80. doi: 10.3109/10408444.2014.934439
- 84.-Wu, W., Wang, X., Xiang, Q., Meng, X., Peng, Y., Du, N... & Liu, X. (2014). Astaxanthin alleviates brain aging in rats by attenuating oxidative stress and increasing BDNF levels. *Food Funct.*, 5(1), 158-166. doi: 10.1039/c3fo60400d
- 85.-Wu, Z., Du, Y., Xue, H., Wu, Y., & Zhou, B. (2012). Aluminum induces neurodegeneration and its toxicity arises from increased iron accumulation and reactive oxygen species (ROS) production. *Neurobiology Of Aging*, 33(1), 199.e1-199.e12. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.06.018
- 86.-Yan, D., Jin, C., Cao, Y., Wang, L., Lu, X., Yang, J... & Cai, Y. (2017). Effects of Aluminium on Long-Term Memory in Rats and on SIRT1 Mediating the Transcription of CREB-Dependent Gene in Hippocampus. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 121(4), 342-352. doi: 10.1111/bcpt.12798
- 87.-Yokel, R., Wilson, M., Harris, W., & Halestrap, A. (2002). Aluminum citrate uptake by immortalized brain endothelial cells: implications for its blood-brain barrier transport. *Brain Research*, 930(1-2), 101-110. doi: 10.1016/s0006-8993(02)02234-5
- 88.-Yuan, C., Lee, Y., & Hsu, G. (2012). Aluminum overload increases oxidative stress in four functional brain areas of neonatal rats. *Journal Of Biomedical Science*, 19(1), 51. doi: 10.1186/1423-0127-19-51
- 89.-Yumoto, S., Nagai, H., Matsuzaki, H., Matsumura, H., Tada, W., Nagatsuma, E., & Kobayashi, K. (2001). Aluminium incorporation into the brain of rat fetuses and sucklings. *Brain Research Bulletin*, 55(2), 229-234. doi: 10.1016/s0361-9230(01)00509-3
- 90.-Zhang, H., Wang, P., Yu, H., Yu, K., Cao, Z., Xu, F., & Li, Y. (2018). Aluminum trichloride-induced hippocampal inflammatory lesions are associated with IL-1 $\beta$ -activated IL-1 signaling pathway in developing rats. *Chemosphere*, 203, 170-178. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.03.162
- 91.-Zhang, H., Wei, M., Lu, X., Sun, Q., Wang, C., Zhang, J., & Fan, H. (2020). Aluminum trichloride caused hippocampal neural cells death and subsequent depression-like behavior in rats via the activation of IL-1 $\beta$ /JNK signaling pathway. *Science Of The Total Environment*, 715, 136942. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.136942
- 92.-Zhang, L., Jin, C., Liu, Q., Lu, X., Wu, S., Yang, J... & Cai, Y. (2013). Effects of subchronic aluminum exposure on spatial memory, ultrastructure and L-LTP of hippocampus in rats. *The Journal Of Toxicological Sciences*, 38(2), 255-268. doi: 10.2131/jts.38.255

- 93.-Zhang, L., Jin, C., Lu, X., Yang, J., Wu, S., Liu, Q... & Cai, Y. (2014). Aluminium chloride impairs long-term memory and downregulates cAMP-PKA-CREB signalling in rats. *Toxicology*, 323, 95-108. doi: 10.1016/j.tox.2014.06.011