

IV. RESULTATS

1. Efectes materno i feto-tòxics de l'exposició prenatal a hidrocortisona (HC) i manganès (Mn).

Es va valorar la toxicitat materna (*taules IV.1, IV.2, IV.3*), i la toxicitat embriofetal (*taules IV.4, IV.5*) en ratolins exposats del dia 6 al 17 de gestació a hidrocortisona (HC), manganès (Mn), i HC combinada amb Mn, a dosis de 0 i 5 mg/kg/dia d'HC i 0, 1, 2 i 4 mg/kg/dia de clorur de manganès.

Toxicitat materna

A la *taula IV.1* es pot veure el guany de pes corporal dels ratolins gestants per cada grup de tractament. En els dies 0-6 de gestació, en que els animals no havien començat el tractament, no existeixen diferències significatives entre grups. Tanmateix, sí existeixen diferències entre grups durant els dies 7-18 de gestació. En aquest sentit, el grup control té un guany de pes més alt, diferint significativament del grup tractat amb la dosi de 4 mg/kg/dia de Mn, el qual té un guany de pes corporal més baix. Quan el grup tractat amb la dosi 4 mg/kg/dia rep a més a més HC (5 mg/kg/dia), aquest difereix encara més del grup control, ja que el guany de pes corporal és encara més baix.

Si dividim el període dels dies 7 al 18 de gestació en subperíodes: del 7 al 9, del 10 al 12, del 13 al 15 i del 16 al 18, veiem que apareixen diferències significatives respecte al grup control en quasi tots els subperíodes de tractament. Existeix un efecte significatiu del Mn en els subperíodes dies 7-9, 13-15 i 16-18 ($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) i un efecte de la HC en els mateixos períodes (7-9, 13-15, 16-18) ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.05$). També existeix un efecte significatiu de la interacció (Mn x HC) durant aquests períodes ($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.01$).

Taula IV.1. Guany de pes corporal en ratolins exposats a Mn i hidrocortisona durant els dies de gestació 6-18.

Hidrocortisona (mg/kg/dia)	0	0	0	0	5	5	5	5
Clorur de Mn (mg/kg/dia)	0	1	2	4	0	1	2	4
Nombre d'animals gestants	11	8	11	11	10	7	11	9
Dies de gestació	Guany de pes corporal (g)							
0-6	4.09±1.04	3.50±0.76	3.82±0.87	4.55±1.29	4.80±1.32	3.86±0.69	4.55±0.69	4.33±1.22
7-9	1.73±0.65 ^{ac}	1.88±0.64 ^a	0.45±0.69 ^b	1.64±1.12 ^{ac}	1.73±1.17 ^{acb}	0.43±0.53 ^{cb}	0.45±0.82 ^b	0.22±0.67 ^b
10-12	3.55±1.13	4.50±0.93	4.00±1.26	3.45±1.04	3.10±1.17	3.86±0.38	3.82±1.25	4.78±1.72
13-15	4.82±0.98 ^{ac}	6.50±0.93 ^a	5.73±1.01 ^{ad}	3.27±1.56 ^c	4.40±0.70 ^{dce}	5.57±1.51 ^{ae}	4.55±0.69 ^{cde}	-0.22±1.86 ^b
16-18	5.73±1.49 ^{ac}	6.88±1.13 ^a	4.91±1.92 ^{ac}	0.09±2.84 ^b	5.40±1.35 ^{ac}	4.00±1.15 ^c	4.55±1.29 ^{ac}	0.11±0.93 ^b
7-18	22.27±2.94 ^{ac}	26.88±2.36 ^a	21.82±3.76 ^{ac}	13.64±5.4 ^b	20.40±3.13 ^c	19.86±4.30 ^c	18.64±3.44 ^c	7.33±2.06 ^d

Els resultats estan expressats en mitjanes ± desviacions estàndard. Valors en una mateixa fila que mostren diferents superíndex (^{a, b, c, d, e}) presenten diferències estadísticament significatives al 95% (p<0.05).

Tot i que es van trobar diferències entre grups en quant al guany de pes corporal (*taula IV.1*), no es van detectar diferències significatives entre les mitjanes dels grups de tractament en la ingesta de menjar (*taula IV.2*).

En quant a la variable pes corporal al final de la gestació (*taula IV.3*), hi ha diferències degudes a un efecte del Mn ($p < 0.001$) i de la HC ($p < 0.001$). El pes de l'úter gràvid també difereix significativament segons el grup de tractament. Els grups amb pes més baix han estat els tractats amb la dosi més alta de Mn (4 mg/kg/dia), i aquesta disminució encara és més important quan aquesta dosi va acompanyada d'HC (5 mg/kg/dia). En aquesta variable hi ha un efecte del Mn ($p < 0.001$), de l'HC ($p < 0.001$) i de la interacció (Mn x HC) ($p < 0.01$).

Pel que fa al pes corporal corregit (*taula IV.3*), tot i que existeixen algunes diferències entre grups, no hi ha diferències entre les mitjanes dels grups tractats i el grup control.

El canvi de pes corporal corregit (*taula IV.3*) està afectat pel Mn i la HC, trobant diferències entre els grups tot i que no són significatives respecte el grup control.

Malgrat no haver-hi diferències entre grups respecte al pes del fetge (pes absolut), sí apareixen diferències en el pes relatiu d'aquest òrgan, afectat pel factor Mn ($p < 0.001$) i per la interacció (Mn x HC) ($p < 0.05$). El pes relatiu més alt correspon als animals tractats amb la dosi més alta de Mn (4 mg/kg/dia). De la mateixa manera tampoc es troben diferències entre grups en el pes dels ronyons (pes absolut), però quan valorem les mitjanes dels grups segons el pes relatiu, aquest està augmentat en els grups exposats a la dosi més alta de Mn (4 mg/kg/dia) respecte al grup control. Aquestes diferències eren degudes a un efecte del Mn ($p < 0.001$) i la HC ($p < 0.001$) (*taula IV.3*).

Taula IV.2. Ingesta d'aliment en ratolins exposats a Mn i hidrocortisona durant els dies de gestació 6 al 18.

Hidrocortisona (mg/kg/dia)	0	0	0	0	5	5	5	5
Clorur de Mn (mg/kg/dia)	0	1	2	4	0	1	2	4
Nombre d'animals gestants	11	8	11	11	10	7	11	9
Dies de gestació	Menjar consumit (g)							
0-6	55.98±24.72	32.22±2.41	41.25±30.26	45.32±9.88	43.31±5.79	31.10±2.49	29.30±15.35	45.61±25.37
7-9	16.83±5.16	15.83±0.29	19.53±9.38	18.45±3.46	19.46±6.08	16.58±1.28	20.42±5.02	27.39±17.60
10-12	18.75±7.73	16.89±0.84	16.22±0.48	16.93±5.38	19.63±4.50	17.38±1.38	19.73±6.62	19.03±8.44
13-15	16.55±3.03	20.42±2.24	18.83±1.81	17.45±3.07	19.25±6.22	21.29±2.73	21.83±7.27	23.25±4.02
16-18	20.92±5.07	24.56±1.90	21.03±1.06	18.67±4.31	23.29±6.57	23.83±2.48	20.63±5.33	23.53±10.17
7-18	73.05±17.59	77.69±1.81	75.61±9.29	71.50±13.58	81.63±20.10	79.08±5.96	82.62±19.78	93.19±35.94

Els resultats estan expressats en mitjanes ± desviacions estàndard.

Taula IV.3. Efectes del Mn, l'hidrocortisona, i Mn més hidrocortisona en algunes variables maternes en ratolins gestants.

Hidrocortisona (mg/kg/dia)	0	0	0	0	5	5	5	5
Clorur de Mn (mg/kg/dia)	0	1	2	4	0	1	2	4
Nombre d'animals gestants	11	8	11	11	10	7	11	9
Pes corporal al final de la gestació (g)	54.73±3.20 ^{ac}	58.38±2.07 ^a	53.55±4.39 ^{ac}	46.55±6.09 ^{bc}	54.40±3.72 ^{ac}	52.00±5.29 ^{ace}	50.82±3.92 ^c	40.11±1.27 ^d
Pes de l'úter gràvid (g)	18.75±2.74 ^{ac}	22.66±2.70 ^a	17.50±3.60 ^{ac}	8.39±6.01 ^b	19.45±2.26 ^{ac}	18.24±2.90 ^{ac}	17.29±2.74 ^c	1.90±0.44 ^d
Pes corporal corregit (g)	35.98±1.51 ^{ac}	35.71±1.70 ^{ac}	36.04±1.70 ^{ac}	38.16±2.66 ^a	34.88±2.31 ^c	33.76±3.06 ^c	33.31±1.84 ^c	38.35±1.19 ^a
Canvi de pes corporal corregit (g)	7.62±1.08 ^{abc}	7.71±2.26 ^{abc}	8.13±1.24 ^{abc}	9.80±2.59 ^{ac}	5.99±2.29 ^b	5.47±2.57 ^b	5.61±1.27 ^b	9.98±1.63 ^c
Pes del fetge (g)	2.32±0.29	2.41±0.12	2.40±0.20	2.55±0.28	2.19±0.19	2.19±0.33	2.08±0.23	2.37±0.18
Pes relatiu del fetge (%)	4.20±0.50 ^a	4.10±0.30 ^a	4.50±0.40 ^a	5.50±0.80 ^b	4.00±0.20 ^a	4.20±0.50 ^a	4.10±0.30 ^a	5.90±0.30 ^b
Pes dels ronyons (g)	0.40±0.02	0.36±0.02	0.39±0.02	0.49±0.05	0.41±0.03	0.40±0.06	0.41±0.04	0.47±0.05
Pes relatiu dels ronyons (%)	0.70±0.10 ^{ac}	0.60±0.00 ^a	0.70±0.10 ^{ac}	1.10±0.20 ^b	0.70±0.10 ^{ac}	0.80±0.10 ^{ac}	0.80±0.10 ^c	1.20±0.10 ^b

Els resultats estan expressats en mitjanes ± desviacions estàndard. Valors en la mateixa fila que mostren diferents superíndex (^{a, b, c, d, e}) presenten diferències estadísticament significatives al 95% (p<0.05).

Toxicitat embriofetal

Els efectes de l'administració de Mn, HC i de Mn combinat amb HC a ratolins gestants en les variables reproductives i fetals (externes) es mostren a la **taula IV.4**.

No s'observen diferències estadísticament significatives en el nombre d'implantacions, ni en la relació entre mascles i femelles pels diferents grups.

Es va observar un increment significatiu del nombre total de reabsorcions per ventrada i del percentatge de pèrdues postimplantació, així com una reducció del nombre total de fetus vius en els animals exposats a Mn a 4 mg/kg/dia. Aquest increment en el nombre total de reabsorcions va ser particularment notable en el grup que a més a més rebia 5 mg/kg/dia d'HC, en el qual no va aparèixer cap fetus viu ni mort. Aquestes diferències són degudes a l'efecte, estadísticament significatiu, del Mn en les reabsorcions ($p < 0.001$), en les pèrdues postimplantació ($p < 0.001$) i en el nombre de fetus vius ($p < 0.001$); de la HC en les reabsorcions ($p < 0.001$) i en les pèrdues postimplantació ($p < 0.05$), i de la interacció (Mn x HC) en les reabsorcions ($p < 0.001$), en el les pèrdues postimplantació ($p < 0.001$) i en el nombre de fetus vius ($p < 0.001$).

El pes corporal dels fetus també va disminuir en els animals que rebien Mn a 4 mg/kg/dia, o Mn a 2 mg/kg/dia combinat amb HC (5 mg/kg/dia). Aquestes diferències entre grups eren degudes a efectes del Mn ($p < 0.001$) o de la HC ($p < 0.001$), però no de la interacció.

En l'examen visceral dels fetus, no es va veure cap malformació, ni per tant, diferències entre grups.

Els resultats de l'examen esquelètic es mostren a la **taula IV.5**. No es van trobar diferències estadísticament significatives entre els grups en el nombre total de retards en l'ossificació. En canvi, es van trobar alteracions en l'ossificació del parietal i l'occipital, així com el xifoide ($p < 0.001$), caudal ($p < 0.01$), costelles, metacarps i metatars ($p < 0.001$), tots deguts al Mn. Es va observar també un efecte de la HC en l'ossificació de l'occipital, mentre que no es va trobar cap efecte de la interacció entre Mn i HC en els defectes esquelètics.

Taula IV.4. Efectes de l'administració d'hydrocortisona, Mn, i hydrocortisona més Mn a ratolins gestants en les variables reproductives i fetals.

Hydrocortisona (mg/kg/dia)	0	0	0	0	5	5	5	5
Clorur de Mn (mg/kg/dia)	0	1	2	4	0	1	2	4
Nombre de ventrades	11	8	11	11	10	7	11	9
Implantacions/ ventrada	12.09±2.17	13.50±1.41	11.55±1.51	9.36±3.85	14.40±1.26	12.57±1.90	13.09±2.34	11.67±3.04
Fetus vius/ventrada	11.27±1.9 ^{ac}	13.13±1.4 ^a	9.09±2.77 ^c	3.45±4.14 ^b	13.40±1.7 ^a	12.43±1.99 ^{ac}	11.82±1.83 ^{ac}	0.00±0.00 ^d
Fetus morts/ventrada	0.36±0.50 ^a	0.13±0.35 ^a	1.64±1.63 ^a	1.45±2.34 ^a	0.10±0.32 ^a	0.00±0.00 ^a	0.55±0.93 ^a	0.00±0.00 ^a
Reabsorcions/ ventrada	0.45±0.69 ^a	0.25±0.46 ^a	0.82±0.87 ^a	4.36±4.76 ^b	0.90±0.88 ^a	0.14±0.38 ^a	0.73±0.65 ^a	11.67±3.04 ^c
Pèrdues postimplantació/ ventrada (%)	0.82±0.87 ^a	0.38±0.74 ^a	2.45±2.11 ^a	5.91±5.09 ^b	1.00±0.94 ^a	0.14±0.38 ^a	1.27±1.19 ^a	11.67±3.04 ^c
Mitjana del pes dels fetus/ventrada (g)	1.30±0.0 ^a	1.35±0.07 ^a	1.26±0.11 ^{ac}	0.97±0.09 ^b	1.16±0.06 ^{cd}	1.16±0.10 ^{ac}	1.12±0.04 ^d	----
Relació mascles- femelles (M/M+F)	0.43±0.15	0.45±0.08	0.44±0.12	0.57±0.27	0.52±0.14	0.47±0.08	0.43±0.15	----

Els resultats estan expressats en mitjanes ± desviacions estàndard. Valors en la mateixa fila que mostren diferents superíndex (^{a, b, c, d}) presenten diferències estadísticament significatives al 95% (p<0.05).

Taula IV.5. Efectes de l'administració d'hydrocortisona, Mn, i hydrocortisona més Mn en els defectes esquelètics dels fetus de ratolí.

Hidro cortisona (mg/kg/dia)	0	0	0	0	5	5	5	5
Clorur de Mn (mg/kg/dia)	0	1	2	4	0	1	2	4
Examen esquelètic								
Nombre de ventrades examinades esquelèticament (fetus)	12(70)	7(47)	11(53)	6(19)	10(66)	8(44)	11(69)	0(0)
Nombre total de retards en l'ossificació	12(48)	7(43)	10(35)	6(19)	10(55)	8(42)	11(66)	--
Parietal	0(0) ^a	0(0) ^a	0(0) ^a	5(7) ^b	0(0) ^a	0(0) ^a	0(0) ^a	--
Frontal	0(0)	0(0)	4(7)	3(6)	2(9)	3(4)	1(1)	--
Occipital	1(2) ^a	0(0) ^a	2(2) ^{ac}	5(7) ^{bc}	5(16) ^{ac}	5(14) ^{ac}	8(23) ^{bc}	--
Estèrnum	8(34)	6(37)	9(23)	6(16)	8(38)	8(40)	11(54)	--
Xifoide	0(0) ^a	0(0) ^a	0(0) ^a	3(3) ^b	1(1) ^a	0(0) ^a	1(1) ^a	--
Caudal	1(2) ^a	0(0) ^a	4(7) ^b	4(8) ^b	1(3) ^a	0(0) ^a	2(3) ^{ab}	--
Costelles	5(6) ^{ab}	0(0) ^a	4(5) ^{ab}	6(13) ^c	5(16) ^{ab}	0(0) ^a	5(12) ^{ab}	--
Primer metacarp	0(0) ^a	0(0) ^a	1(2) ^a	3(5) ^b	0(0) ^a	0(0) ^a	0(0) ^a	--
Segon metacarp	0(0) ^a	1(2) ^a	2(4) ^a	6(10) ^b	1(1) ^a	0(0) ^a	1(2) ^a	--
Tercer metacarp	3(7) ^a	3(8) ^{ac}	6(11) ^{ac}	6(16) ^{bc}	2(2) ^a	2(4) ^a	7(18) ^{ab}	--
Primer metatars	0(0) ^a	0(0) ^a	1(3) ^a	3(5) ^b	0(0) ^a	0(0) ^a	0(0) ^a	--
Segon metatars	0(0) ^a	0(0) ^a	4(7) ^a	6(14) ^b	1(2) ^a	1(1) ^a	1(3) ^a	--
Tercer metatars	1(1) ^a	1(2) ^a	6(11) ^{ab}	6(16) ^b	1(2) ^a	3(6) ^{ab}	5(9) ^{ab}	--

Resultats en la mateixa fila que mostren diferents superíndex (^{a, b, c}) presenten diferències estadísticament significatives al 95% (p<0.05).