



44.
24.
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

E.N.E.P.

ZARAGOZA

Estudio Histopatológico de Pulmón
y Corazón de Ratas Intoxicadas
con Toxafeno y Paratión.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
MARIA LILIA CAROLINA SOTO PEREA

Asesor: M. en C. OLGA ARCINIEGA RUIZ DE ESPARZA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

México, D. F.

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

INTRODUCCION	2
FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA.	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
OBJETIVO	6
HIPOTESIS	6
INSECTICIDAS EMPLEADOS.	
TOXAFENO	7
PARATION	11
HISTOLOGIA Y ANATOMIA DE PULMONES Y CORAZON.	
PULMONES	19
CORAZON	25
MATERIAL Y METODO	29
RESULTADOS	34
DISCUSION Y ANALISIS DE RESULTADOS	51
CONCLUSIONES	59
RESUMEN	60
APENDICE I	61
APENDICE II	62
BIBLIOGRAFIA	63

**ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DE
PULMON Y CORAZON DE RATAS
INTOXICADAS CON TOXAFENO Y PARATION.**

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Citoquímica del Departamento de Morfología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional bajo la dirección de la Maestra en Ciencias Olga Emma Arciniega Ruiz de Esparza.

La técnica de inclusión en parafina para el procesamiento de los órganos por medio del Histokinett se realizó en la Sección de Histología y Embriología de la Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza.

INTRODUCCION

Aproximadamente una tercera parte de los cultivos son destruidos o consumidos por los insectos. Los insectos no solamente destruyen cosechas de alimentos, ganado, bosques, fibras vegetales y otros, sino que también transmiten enfermedades mortales, tales como malaria, fiebre amarilla, encefalitis, etc., enfermedades que en los países en desarrollo, entre ellos el nuestro, han constituido un problema de capital importancia. Cuando se ha tratado de resolver este difícil problema la alternativa más práctica ha sido la utilización de sustancias químicas, como los pesticidas (5).

Aproximadamente 300 plaguicidas orgánicos están siendo empleados en más de 100,000 formulaciones, de estos los insecticidas clorados, así como los organofosforados son utilizados por su alta eficacia en el control de plagas de insectos (9).

Los insecticidas organoclorados son compuestos muy estables y muy variables en cuanto a su efecto. Muchos de los insecticidas de este grupo y algunos de sus metabolitos son solubles en grasas y acumulables en el tejido adiposo del hombre y de los mamíferos; también tienden a depositarse en medio acuático y terrestre (persistencia o permanencia en el ambiente).

La tendencia actual es sustituir a los insecticidas organoclorados por los organofosforados y los carbamatos, ya que no son persistentes, sin embargo son más tóxicos que los organoclorados y representan un riesgo mayor para los animales y el hombre (3).

Uno de los efectos que provoca la exposición crónica a plaguicidas, es la inducción de una mayor producción de las enzimas que los metabolizan, incrementando la velocidad a la cual son degradados. Lo que se considera es una respuesta adaptativa que protege al animal de compuestos potencialmente perjudiciales. La mayor cantidad de las enzimas metabolizantes se localizan en

el hígado, pero también existen en riñones, pulmones, glándulas adrenales, intestino delgado y piel de vertebrados. En mamíferos se han encontrado además en placenta, testículos y ovarios. Estas enzimas cumplen también una función en cuanto a la degradación y excreción de compuestos normales del organismo, como ácidos grasos, colesterol, ácidos biliares, hormonas sexuales masculinas y femeninas (andrógenos y estrógenos), hormonas tiroideas, hemoglobina y otros (29).

Los insecticidas organofosforados son los agentes inductores más efectivos, pues la exposición a uno de ellos puede resultar en el doble de actividad enzimática, lo cual repercute en una mayor degradación y excreción de los compuestos normales mencionados; y a largo plazo en daños a los órganos que las producen. Muchos efectos secundarios debidos a los insecticidas se relacionan con este fenómeno de inducción: problemas hepáticos, pulmonares y dérmicos; disminución de corticosteroides adrenales; menores niveles de hormonas tiroideas (hipotiroidismo) y de andrógenos y estrógenos, lo cual repercute en menor sexualidad y capacidad reproductiva (29).

FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA.

El uso de los insecticidas en nuestro país se ha incrementado notablemente en los últimos años. Entre las causas que han propiciado este incremento se pueden mencionar las siguientes; el aumento de la población, la necesidad de alimentos, la protección de la salud (enfermedades transmitidas por insectos) y la conservación de áreas verdes (12). Así se emplean sustancias organocloradas como el toxafeno y DDT y organofosforadas como el paratión que al irse acumulando en el organismo pueden ser tóxicas para diferentes órganos.

Se han realizado diversos estudios con insecticidas como DDT, toxafeno y paratión. Los resultados obtenidos han sido:

1. Acumulan en los tejidos de organismos expuestos a ellos principalmente en la porción lipídica (4, 21).
2. Producen daño hepático (5, 12).
3. Posiblemente inducen cáncer y algunas mutaciones (30).
4. Modifican la respuesta inmunológica (23,31).
5. Producen daño renal (13, 22).

Se sabe que el hígado es el órgano más importante que cataliza el metabolismo del paratión (28). Sin embargo la oxidación de este a su metabolito tóxico (paraoxón) en otros tejidos diferentes del hígado puede ser de importancia relacionándolo con su toxicidad.

En un experimento en el que se uso homogenizado de microsomas y sobrenadante de tejido de rata, se detectó actividad

de la enzima oxidasa de función mixta con respecto al paratión en pulmón y riñones además poca actividad en cerebro, intestino, bazo, pancreas y corazón (28).

Por otro lado, se sabe que los compuestos organoclorados como el toxafeno son menos tóxicos que los organofosforados; en cambio tienen mayor poder residual y acumulativo en los problemas crónicos (4). Como otros insecticidas organoclorados, el toxafeno es de larga vida en el ambiente y en residuos del suelo y agua se le ha encontrado después de nueve años de aplicación (21).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad se emplean muchas veces en forma indiscriminada pesticidas como el toxafeno (autorizado y aplicado a gran escala debido a que es parcialmente biodegradable) y el paratión.

Consideramos que es importante tener conocimiento del daño que puede provocar en diferentes órganos de animales y humanos ya que tal vez con ello se pueda regular su uso, evitar reacciones adversas y extremar las precauciones al aplicar dichos productos.

OBJETIVO

Detectar histológicamente el daño causado por los insecticidas toxafeno y paratión en órganos vitales como corazón y pulmón usando la técnica histológica.

HIPOTESIS

Si consideramos que en órganos como hígado y riñón donde se metaboliza el paratión a paraoxón por medio del sistema oxidasa de función mixta se han observado diversas alteraciones histológicas, podemos suponer que en pulmón donde se ha detectado también esta actividad enzimática y en corazón aunque en menor grado se puede encontrar un cuadro histopatológico provocado por estos insecticidas

INSECTICIDAS EMPLEADOS

TOXAFENO

Debido a que es un insecticida organoclorado, el toxafeno se asocia con: DDT, aldrin, dieldrin, heptacloro, lindano y clordano (27).

USOS. Debido a su gran efectividad (toxicidad) sobre insectos que atacan al algodón, el toxafeno es el número uno en uso para combatir las plagas que atacan a este cultivo, por lo cual en México se utiliza en su mayor parte para este fin. Este uso se hace también paralelo en Sudamérica y África.

El toxafeno también se utiliza para combatir los ácaros (garrapatas) que atacan el ganado, con muy buenos resultados. Por su alta toxicidad en los peces se le puede administrar de manera controlada para erradicar algún tipo de pez no deseable.

La selectividad del toxafeno a partir de 1972 se amplía hacia una gran variedad de insectos atacantes de diferentes cultivos, frutas, legumbres y vegetales con un total de 40 usos diferentes (6, 27).

El primer trabajo publicado sobre el toxafeno como insecticida data de 1946. Este compuesto es un terpeno bicíclico clorado, designado primeramente como "Hercules sintético 3956" debido a que fue desarrollado cooperativamente por la Hercules Power Company y la Universidad de Delaware después de un largo programa de investigación. En Delaware se efectuaron los primeros esfuerzos para establecer el valor de este tóxico cuando se utiliza solo, o en combinación con otros insecticidas contra una serie de insectos, haciendo comparaciones con otros insecticidas.

Este insecticida sintético tiene fórmula empírica $C_{10}H_{10}Cl_8$, siendo una mezcla de más o menos 177 compuestos policlorados. Resulta de la cloración del canfeno, hidrocarburo obtenido generalmente de la trementina (aceite esencial obtenido de los exudados resinosos o resinas de la madera de los árboles del género conífera).

La mayoría de los compuestos del toxafeno son policloro bornanos o compuestos bicíclicos que dan bornano en el proceso de reducción. La reducción del toxafeno con hidruro de trifenil estaño a 50 ° produce bornano con rendimiento del 20 %.

Utilizando diferentes técnicas cromatográficas Kalifa et. al. (17), aislaron dos componentes que mostraron una alta toxicidad en ratones y a los que se denominó tóxicos A y B.

El tóxico B es un sólido con fórmula $C_{10}H_{11}Cl_7$ y un porcentaje de cloro de 65.18 % y su estructura quedó establecida como: 2, 2, 5, endo, 6 exo, 8, 9, 10 heptacloro bornano.

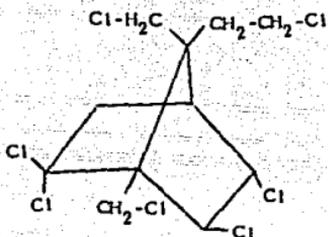
El tóxico A; es un sólido cristalino con una fórmula molecular $C_{10}H_{10}Cl_8$ y un porcentaje de cloro de 68.24 % y es una mezcla de dos compuestos en una relación de 60:40 . Estos dos compuestos se identificaron como: 2, 2, 5, endo, 6 exo, 8, 8, 9, 10 octaclorobornano y 2, 2, 5, endo, 6 exo, 8, 9,9,10 octacloro bornano (figura 1).

Cuando estos tóxicos se aplican por vía intraperitoneal a ratones de manera independiente, son 14 y 6 veces respectivamente más tóxicos que el toxafeno solo. Además los autores concluyen que la potencialidad de dichos tóxicos posiblemente sea la causante de la toxicidad aguda significativa del toxafeno en mamíferos, pero hacen notar que los componentes que ocasionan alta toxicidad aguda, pueden no hacerlo en forma crónica.

En forma resumida y generalizada se ha visto que el toxafeno actúa sobre el sistema nervioso central provocando estimulación difusa, dando como resultado hiperexcitabilidad, salivación, vómitos, temblores, convulsiones crónicas y luego contracciones tetánicas de los músculos esqueléticos, culminando con la muerte por falta de respiración si es que la dosis es mortal (15).

Los cambios patológicos debidos al envenenamiento incluyen hemorragias petequiales, congestión cerebral, congestión pulmonar, de medula espinal, corazón e intestino. Se puede presentar algo de edema pulmonar y degeneración cerebral y medular. Los animales envenenados en forma crónica, muestran una degeneración

TOXICO B



TOXICO A

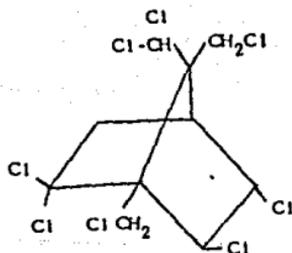
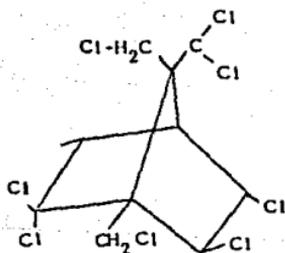


FIG. 1 FORMULAS ESTRUCTURALES DE COMPONENTES DEL TOXAFENO.

El tóxico B es un sólido con fórmula $C_{10}H_{11}Cl_7$. El Tóxico A es una mezcla de dos compuestos en una relación 60:40, es un sólido con fórmula $C_{10}H_{10}Cl_8$. (Tomado de Campos, 1979).

de los tubulos renales y del parénquima hepático (15).

TOXICIDAD AGUDA. Los estudios de toxicidad aguda en animales indican que el toxafeno es más tóxico que el DDT, sin embargo el rango de la DL_{50} en ratas por vía oral es amplia (60-120 mg/kg) y es altamente tóxico en perros (50 mg/kg es letal). Tomando en cuenta algunos casos de envenenamiento se ha calculado que la dosis letal para un individuo de 70 kg es de 3.5 g, aunque otros reportes de envenenamiento indican que 2 g son suficientes para matar a un hombre (14).

En otras especies como las aves, la toxicidad del insecticida se compara con la producida en mamíferos. En éstos, las dosis agudas orales son tan tóxicas como las del DDT. Sin embargo, comparando al toxafeno con otros insecticidas organoclorados se dice que tiene una toxicidad intermedia sobre mamíferos. Por lo antes mencionado se infiere que este insecticida puede desencadenar diferentes tipos de toxicidad dependiendo de la especie en la que actúa (27).

TOXICIDAD SUBAGUDA Y CRÓNICA. Desde 1957 se ha reportado una serie de cambios patológicos en el hígado de las ratas intoxicadas con varios insecticidas incluyendo el toxafeno. Administrando 50-200 p.p.m. de toxafeno en la dieta de ratas, se han visto cambios en el hígado, los cuales fueron hipertrofia celular centrolobulillar, migración periférica de granulaciones citoplásmicas basófilas y cuerpos de inclusión citoplásmicos y son similares a los causados por el DDT (27).

En otros estudios en ratas se ha reportado la inducción microsomal con las concentraciones de 0.2-50 p.p.m. tomando como parámetros la N-dimetilación de p-nitroanisol y la N-dimetilación de la aminopiridina. En estos estudios se encontró que la inducción enzimática causada por el toxafeno fue menor que la del DDT (18).

Welch y col. (35), encontraron que el toxafeno causa un incremento en el metabolismo de estrógeno y una disminución del

peso de las crías cuando se administra a ratas preñadas a una dosis de 23 p.p.m. por 27 días. Los estudios por tiempos más prolongados proporcionaron evidencias que el toxafeno es un carcinógeno para ratas y ratones.

ESTUDIOS IN VITRO. El toxafeno junto con otros insecticidas organoclorados: disminuye el transporte activo de glucosa a través del intestino aislado de ratones (14). En otros estudios se observa disminución de la respuesta mitocondrial, la actividad de la succinoxidasa mitocondrial con un micromol de toxafeno se reduce con respecto al control, también inhibe o disminuye el citocromo c (26).

METABOLISMO Y EXCRECIÓN. La biotransformación hepática de insecticidas consiste en convertir los compuestos apolares y lipofílicos en material polar y soluble en agua para que pueda excretarse.

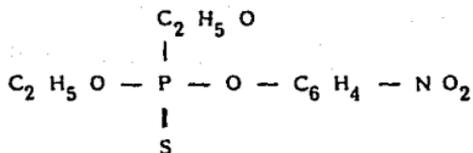
La velocidad y la ruta de excreción de estos insecticidas (o sus metabolitos) está determinado por:

- a) La velocidad de captación por hígado o riñón y
- b) La facilidad con que esos órganos pueden eliminar estos insecticidas por la vía excretoria respectiva.

En estudios del metabolismo del toxafeno en ratas se usó (^{36}Cl) (^{14}C) toxafeno por vía oral y se colectaron muestras de orina y heces por 14 días después de administrar el compuesto; las ratas excretaron (combinando orina y heces fecales) 76% del ^{36}Cl toxafeno y el 57% del ^{14}C Toxafeno, muy poco toxafeno fue excretado sin metabolizar (27). De lo anterior se concluyó que el 53% de la dosis oral del toxafeno fue excretada en orina y heces en 9 días. La mayor proporción fue encontrada en heces y se encontró muy poco en los tejidos, por lo tanto su almacenamiento no es importante (27).

PARATION

El paratión es un organofosforado con fórmula molecular $C_{10}H_{14}NO_5PS$ (éster 0,0 - dietílico 0,4 -nitrofenílico del ácido tiofosfórico).



Es un líquido amarillento con olor aliáceo, poco volátil, insoluble en agua, soluble en hidrocarburos aromáticos y grasa que se hidroliza en condiciones alcalinas. Puede penetrar a través de la piel y la dosis letal 50 para ratas, por vía oral es de 3.6 mg/Kg de peso para las hembras (son más susceptibles) y 13 mg/Kg de peso para los machos (34).

USOS. El paratión se usa como insecticida para el control de plagas en granos, algodón, manzanas y uvas. Se aplica por aspersión, así que no son raras las inhalaciones de éste cuando se efectúa la aplicación sin mascarillas y contra el viento, (predominan trastornos oculares o respiratorios); la absorción percutánea es favorecida por su liposolubilidad (11).

La ingestión puede ser en grandes cantidades por error o algunas veces con fines suicidas, aunque lo común es que se ingiera en pequeñas cantidades residuales en frutas, verduras y granos (10).

METABOLISMO DEL PARATION. Los principales metabolitos del paration formados por reacciones catalizadas por microsomas hepáticos de rata conejo y ratón (figura 2).

Reacción 1. Corresponde al metabolismo del paration a productos no tóxicos, ácido dietilfosforotioico y p - nitrofenol, requiere NADPH y O_2 como cofactores y ser catalizado por un sistema enzimático de oxidasa de función mixta.

Reacción 2. Se lleva a cabo por la pérdida de un átomo de azufre del paration para formar el compuesto tóxico anticolinesterasa paraoxón. También es catalizado por un sistema enzimático de función mixta.

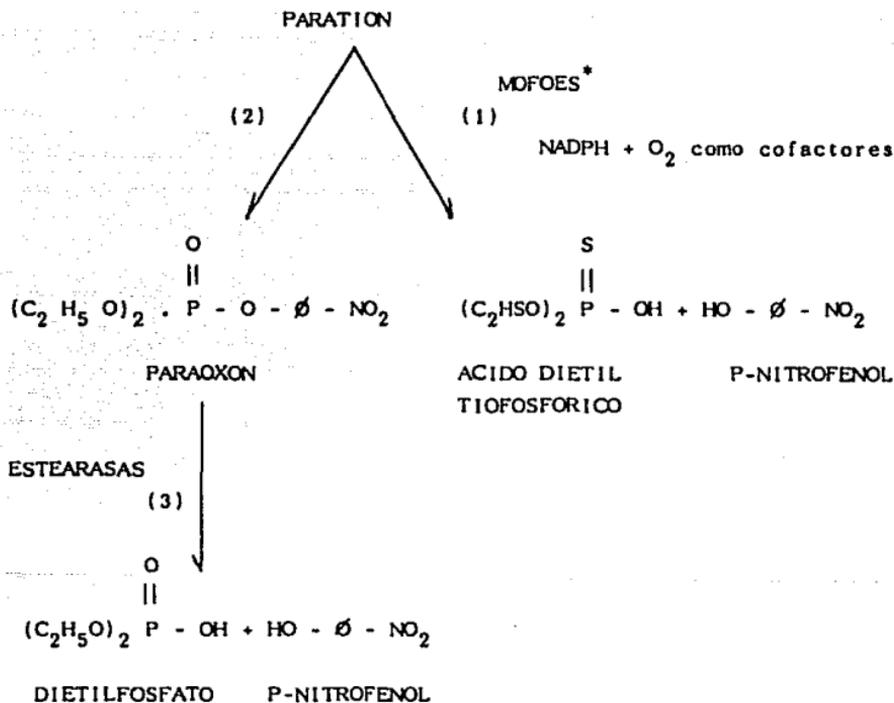
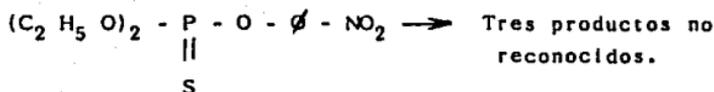
Reacción 3. El metabolismo del paraoxón a dietil fosfato y p-nitrofenol es catalizado por esterases encontradas en todos los tejidos.

Se han encontrado tres metabolitos en menor cantidad. Uno de estos se ha identificado tentativamente como desetil paration. La formación de este metabolito también requiere NADPH y O_2 . Se piensa que los otros metabolitos por su comportamiento en cromatografía de capa fina, pueden ser ácido fosfotioico o fosfórico o bien mono dietil derivados de estos ácidos.

Se han encontrado evidencias de que existe metabolismo de paration a paraoxón en intestino delgado, pulmón, riñon y glándula suprarrenal de ratas hembras (28).

EXCRECION. Los insecticidas organofosforados no se acumulan en tejido graso, se eliminan rapidamente y en su totalidad por vía renal dentro de las primeras 24 horas (8).

Otras vías de eliminación son la fecal 5-10 %, la respiratoria 1-16 % y la mamaria 0.1-1 % (20, 22).



* MOFOES : Sistema enzimático de oxidasa de función mixta.

Fig.2 METABOLISMO DEL PARATION POR MICROSOMAS HEPATICOS DE MAMIFEROS (28)

MECANISMO DE ACCION DEL PARATION. Los compuestos organofosforados son potentes inhibidores de la colinesterasa y juegan un importante papel fisiológico en las uniones en las que se libera este mediador.

La colinesterasa es una enzima que se localiza en todos los tejidos de los animales, su función es hidrolizar la acetilcolina en colina y ácido acético. En condiciones normales la acetilcolina tiene una permanencia efímera en la sinapsis, esto se debe a que la colinesterasa la destruye para evitar su acumulación durante la propagación del impulso nervioso.

Los insecticidas organofosforados al interferir en el sistema enzima-sustrato (colinesterasa-acetilcolina) provocan su toxicidad en el organismo (figura 3).

La colinesterasa posee un centro activo con dos zonas de distinto carácter reactivo, (esteárico (+) y aniónico (-)), en la zona esteárica se efectúa la hidrólisis del sustrato acetilcolina y este es el punto que atacan los insecticidas organofosforados.

Cuando la enzima colinesterasa se pone en contacto con la acetilcolina, su punto esteárico atrae al grupo éster (acetilo, de la acetilcolina) uniéndose mediante el átomo de carbono. El punto aniónico atrae al nitrógeno de la colina. Después, la acetilcolina es liberada por hidrólisis y se forma la enzima acetilada. La enzima activa es regenerada por hidrólisis de su derivado acetamido

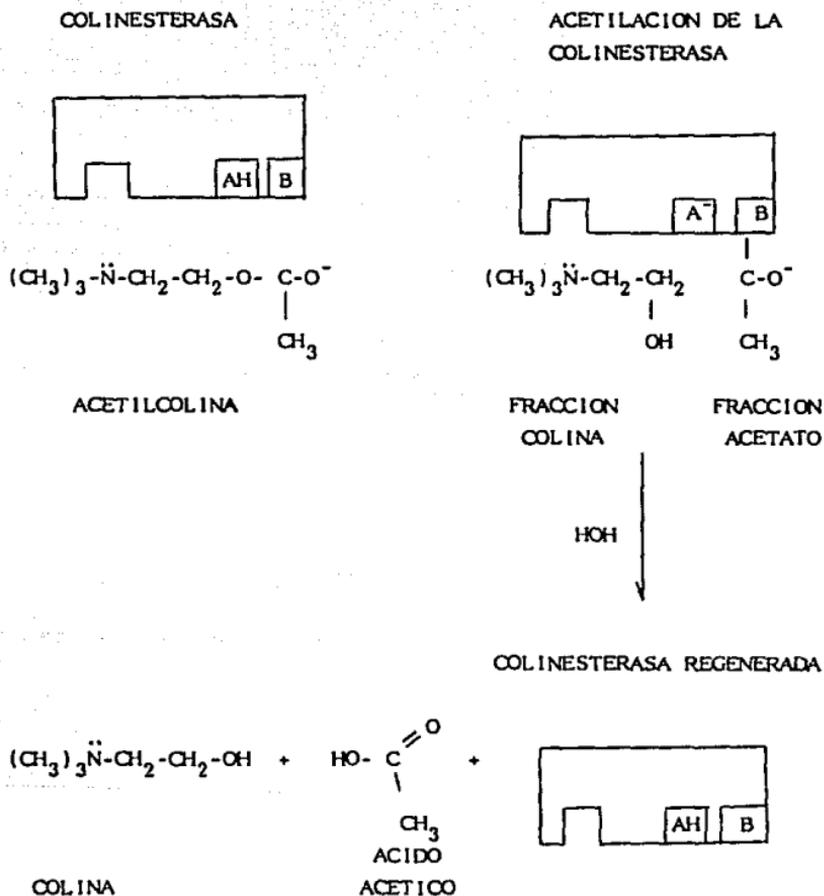


Fig. 3 INTERACCION DE LA COLINESTERASA CON EL SUSTRATO ACETILCOLINA (tomado de De Santiago, 1979)

La colinesterasa actúa en forma similar con los sustratos de los fosfatos orgánicos pero en lugar de acetilarse como lo hace con la acetilcolina, se fosforila fijando un átomo de fósforo en el punto esteérico después hidroliza al éster fosfórico. El inconveniente en este proceso es que el fósforo queda fijado en la enzima formando un compuesto estable por lo que la enzima no se vuelve a reactivar (figura 4).

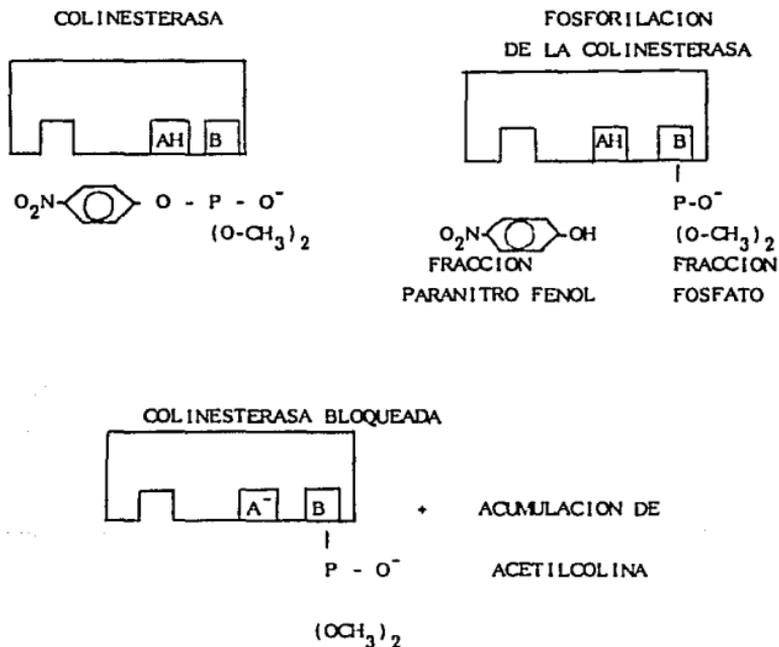


Fig.4 INTERACCION DE LA COLINESTERASA CON EL INSECTICIDA ORGANOFOSFORADO PARAOXON (tomado de De Santiago, 1979).

En muchos casos puede haber un proceso, de desfosforilación, pero es muy lento al igual que la recuperación de la enzima (21).

Al tener concentraciones altas de acetilcolina libre en el cerebro se produce una intoxicación endógena con acetilcolina, es decir, una acumulación de esta sustancia en la sinapsis autónoma y cerebral en las terminaciones postganglionares de los nervios motores y parasimpáticos, causando una hiperexcitación de Sistema Nervioso Parasimpático.

Una proporción importante de estos compuestos organofosforados no reacciona en las sinapsis colinérgicas, debido a que se pueden unir con la colinesterasa no sináptica o bien se biotransforman en el hígado u otros sitios. Por otro lado, puede suceder que estos compuestos sean convertidos en derivados más tóxicos como el paratión que es un bloqueador irreversible débil de la colinesterasa y es convertido principalmente en el hígado a paraoxón el cual es un inhibidor potente de esta enzima. El paraoxón tiene una LD_{50} de 0.4 mg/kg para la rata, en cambio, la que muestra el paratión es de 3 mg/kg.

La acción inhibitoria de la enzima es considerada reversible por completo no así las combinaciones del insecticida y la colinesterasa. El regreso de la colinesterasa a sus niveles normales cuando la administración del insecticida cesa, se debe a la síntesis de nueva enzima y no a la liberación de ésta (21,24).

Según el grado de inhibición de la enzima, se tiene idea exacta de la intensidad de la intoxicación causada por estos compuestos.

La inhibición de la colinesterasa del sistema nervioso en su división colinérgica, provoca una hiperexcitación (parasimpática) con efectos típicos y a veces se registran efectos no específicos, como eosinopenia y luego leucocitopenia, aumento de reticulocitos e hiperglicemia.

En las intoxicaciones, el retardo en la aparición de los síntomas está en relación con la naturaleza química del compuesto, la dosis, el tipo de animal, la vía de administración y

otros factores por lo que la sintomatología es diferente. Se puede empezar con: dolor de cabeza, debilidad, vértigo, visión borrosa, ansiedad, temblor de párpados y lengua, disnea, pulso lento, contracciones musculares, ataxia, fiebre, bloqueo cardíaco, shock o paro respiratorio.

Cuando se tiene una intoxicación por este tipo de sustancias químicas, se puede contrarrestar su efecto mediante la aplicación de atropina, que actúa bloqueando la acción de la acetil colina en exceso, (no es un antídoto específico para estos ésteres fosfóricos). Otro antídoto es el 2-PAM (yoduro de metil piridin aldoxina) que puede reactivar en poco tiempo (1/2 hora) la colinesterasa bloqueada, pero debe aplicarse lo más rápido posible ya que atraviesa la barrera hematoencefálica solo en pequeñas cantidades.

El Toxoquin Merck (BH6), (Dicloruro de eter-bis-4-hidroxi-amino-metil-piridin metil) es otro antídoto que si atraviesa la barrera hematoencefálica; posee una acción reactivadora mayor que la del 2-PAM. Es recomendable además hacer un lavado gástrico para eliminar el tóxico del intestino (9).

HISTOLOGIA Y ANATOMIA DE PULMONES Y CORAZON

PULMONES

Los pulmones son órgano par de color rosado situados en la cavidad torácica, a la derecha e izquierda del corazón. Cada pulmón tiene forma de pirámide de caras curvas, con el ápice dirigido hacia la parte superior y cuya base se apoya en el diafragma; ambos están limitados exteriormente por tres superficies curvas, de las cuales la exterior es convexa y se amolda a la pared torácica; la interna es cóncava para dejar sitio al corazón, la inferior cóncava también, con el fin de amoldarse a la superficie superior del diafragma. En el humano el pulmón derecho es mayor que el izquierdo y está dividido en tres lóbulos o porciones mientras que el izquierdo solo tiene dos. Cada lóbulo recibe una rama del bronquio primario del mismo lado. Cada uno de los cinco lóbulos pulmonares está dividido por medio de tejido conjuntivo septal en un gran número de porciones piramidales de parénquima pulmonar denominados lobulillos. Estos están arreglados de tal manera que el ápice de cada uno apunta hacia el hilio y la base está orientada hacia la superficie del pulmón. Cada lobulillo está provisto con un pequeño bronquio. La superficie externa de los pulmones está revestida por una membrana serosa: la pleura visceral y por fuera de esta se encuentra la pleura parietal (7).

En cada uno de los lóbulos de los pulmones penetra un bronquio primario, este se ramifica para dar ramas progresivamente más delgadas los bronquios secundarios. Una vez en el interior de un lobulillo, el bronquio da ramas denominadas bronquiolos terminales cuyo número varía según el volumen del lobulillo. De cada bronquiolo terminal nacen uno o más

bronquiolos respiratorios. Las terminaciones libres de los bronquiolos respiratorios se dilatan y se abren en lo que se denominan conductos alveolares. Estos son vías largas que se comunican con espacios redondeados que se denominan sacos alveolares, proyectándose hacia el interior hay tabiques que dividen la zona periférica de cada saco en una serie de compartimentos. Estos compartimentos reciben el nombre de alveolos pulmonares (figura 5). Los bronquios intrapulmonares son conductos cilíndricos formados por placas irregulares de cartilago, están recubiertos por una mucosa formada por dos partes; una superficial el epitelio respiratorio y otra profunda, la lámina propia. El epitelio es cilíndrico pseudoestratificado ciliado en las grandes ramas y cúbico no ciliado en las ramas terminales.

La lámina propia consta de tejido conjuntivo con pequeñas cantidades de colágena y fibras reticulares y muchas fibras elásticas. Contiene pocas células linfoides y está separada del epitelio por una prominente membrana basal.

Por debajo de la mucosa hay una capa de haces de fibras musculares lisas que corren alrededor del tubo formando una red entrelazada. Numerosas fibras elásticas están asociadas con las células de músculo liso.

La capa más externa de la pared bronquial consiste de tejido conectivo denso, la cual contiene muchas fibras elásticas. Rodea las placas de cartilago y se continúa con el tejido conectivo que rodea el tejido pulmonar (figura 6)

REVESTIMIENTO DE LAS VIAS AEREAS. En el humano se pueden identificar 8 tipos de células epiteliales aunque las características de su ultraestructura y cinética celular se han estudiado sobre todo en los animales. La siguiente clasificación está basada en estudios sobre la rata: las células basales (I), la célula de Kulchitsky (II), la célula intermedia (III), la célula ciliada (IV), la célula en cepillo (V) la célula mucosa

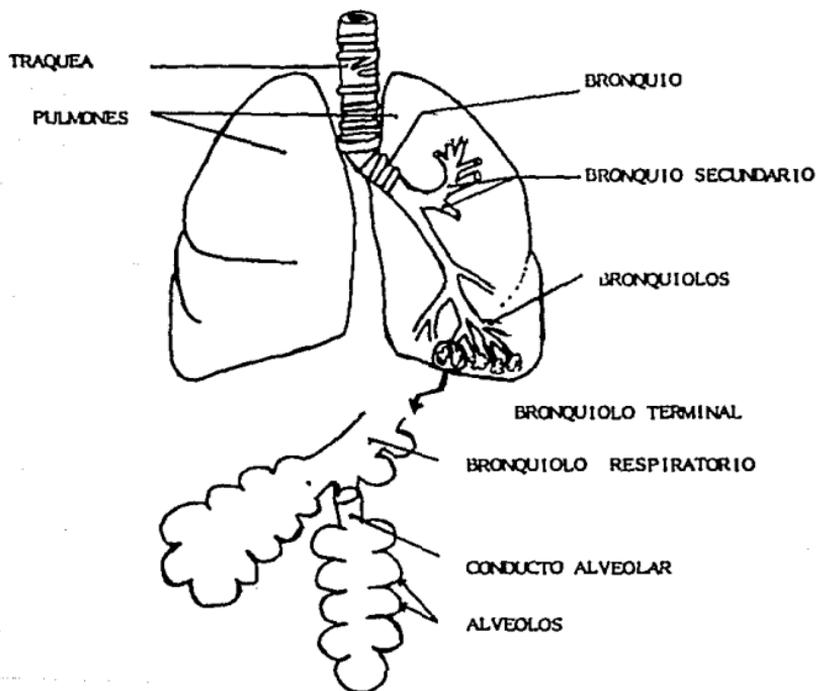


FIG. 5 RAMIFICACIONES DEL ARBOL BRONQUIAL. (Modificado de Ham, 1975).

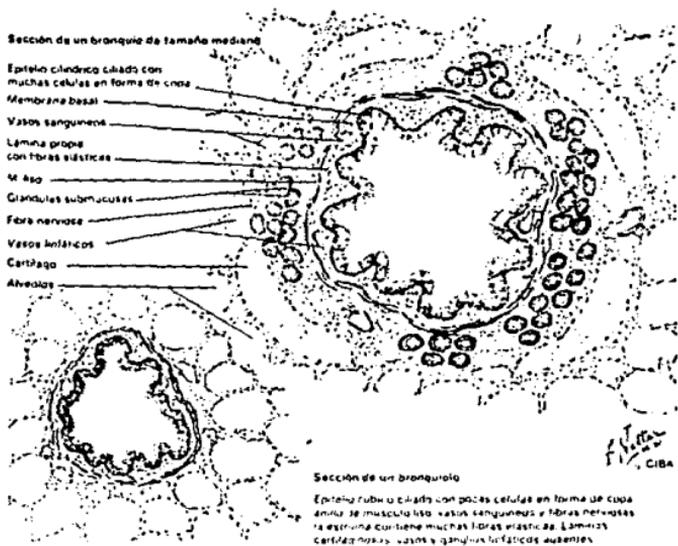


FIG. 5 REPRESENTACION DE LA ESTRUCTURA MICROSCOPICA DE UN BRONQUIO Y UN BRONQUIOLO (Tomado de Netter, 1979).

(en copa) (VI), la célula serosa (VII) y la célula de Clara (VIII) (figura 7).

La célula basal se divide en varias células hijas que posteriormente pasan a la capa superficial.

La célula de Kulchitsky contiene numerosos gránulos neurosecretores y forma parte del sistema APUD (descarboxilación y captación de precursores de aminas) para la formación de péptidos activos. Las células de Kulchitsky son más numerosas antes del nacimiento. Están adheridas a la membrana basal y no llegan a la luz.

La célula intermedia tiene un citoplasma electrolúcido sin ninguna característica en especial. Probablemente es la célula que se transforma en cualquiera de las cinco siguientes.

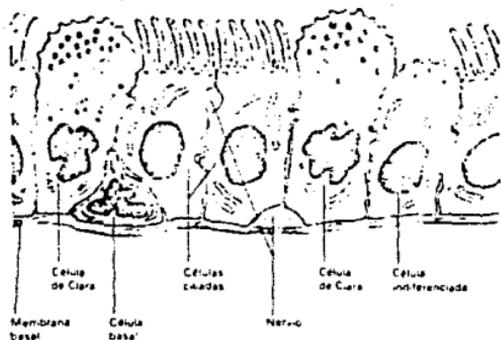
1.- La célula ciliada. Actualmente se sabe que cada cilio posee 9 pares de axonemas y un axonema especial en el centro. Esta disposición es diferente en la base y en el vértice, en el que recientemente se ha identificado una corona de pequeños garfios. Los pies de los axonemas están dispuestos de tal manera que el cilio "encaja" en el citoplasma. Los axonemas están unidos entre sí por brazos de dineína, una proteína contráctil que proporciona el mecanismo para el movimiento ciliar.

2.- La célula en cepillo es parecida a un tipo de célula similar que se encuentra en el intestino y en los senos paranasales. Su función en las vías respiratorias es desconocida.

3.- La célula mucosa, en copa o caliciforme es secretora, contiene numerosos gránulos secretores grandes y confluentes.

4.- La célula serosa contiene pequeños y discretos gránulos secretores electrodensos. Su citoplasma es más electrodenso que el de la célula clara. La célula serosa se encuentra principalmente en posición central.

5.- La célula clara se encuentra solo en posición distal, contiene pequeños y discretos gránulos electrodensos, pero en comparación con la serosa, el citoplasma es electrolúcido y contiene relativamente más retículo endoplásmico liso que rugoso.



Bronquiolos Epitelio (a): Predominan las células cilíadas y las de Clara aumentan progresivamente en dirección distal a lo largo de las vías aéreas. Las células en copa y las serosas disminuyen en dirección distal y están ausentes en los bronquios terminales. Pueden estar presentes ocasionalmente células indiferenciadas y células mucopolisacáridas. Las células basales y las células de Kulkí están ausentes en las vías aéreas distales.

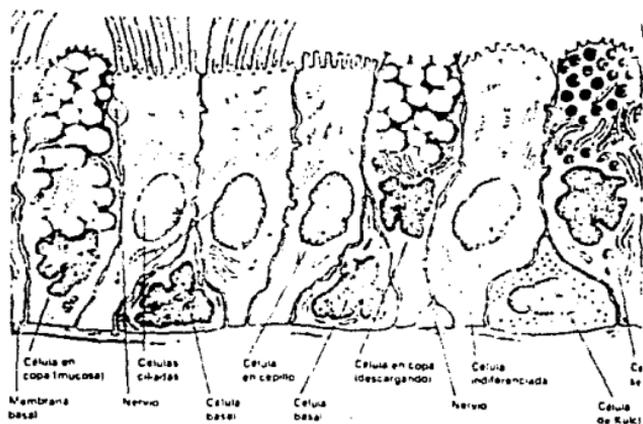


FIG. 7 TIPOS CELULARES PRESENTES EN EL EPITELIO DE LA MUCOSA DE LAS VÍAS AERIAS (tomado de Netter, 1979).

Estas son las células secretoras más comunes de las vías aéreas, pero la irritación, los fármacos o las infecciones pueden provocar hiperplasia y entonces las células serosas y las claras se convierten en mucosas.

Las células diferenciadas se ven en mitosis, pero probablemente este no sea el principal medio por el que aumenta el número de células pulmonares.

La membrana basal está bien delimitada y se vuelve más delgada en las vías aéreas pequeñas. En ciertas enfermedades, especialmente en el asma, aumenta de espesor, aunque su estructura permanece normal (25).

ESTRUCTURAS RESPIRATORIAS DE LOS PULMONES. La unidad funcional del pulmón, frecuentemente llamada lóbulo primario, está compuesta por las siguientes estructuras bronquiolo respiratorio, conducto alveolar, atrium, saco alveolar y alveolos, junto con todos los elementos asociados como son vasos sanguíneos, ganglios linfáticos, nervios y tejido conectivo (figura 8).

Bronquiolos respiratorios. En el humano adulto, los bronquiolos respiratorios tienen un diámetro aproximado de 0.5 mm. están recubiertos por un epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado desprovisto de células calciformes. Hacia el final del bronquiolo el epitelio pierde los cilios y se transforma en cúbico. Estos bronquiolos tienen paredes compuestas por tejido conectivo colágeno que contiene haces de fibras musculares lisas entrelazadas con fibras elásticas. Carecen de cartílago. Una capa delgada de epitelio cúbico del bronquiolo respiratorio se extiende dentro de la pared alveolar. Estos alveolos son las primeras estructuras respiratorias del pulmón y son las responsables del término "bronquiolo respiratorio" (2).

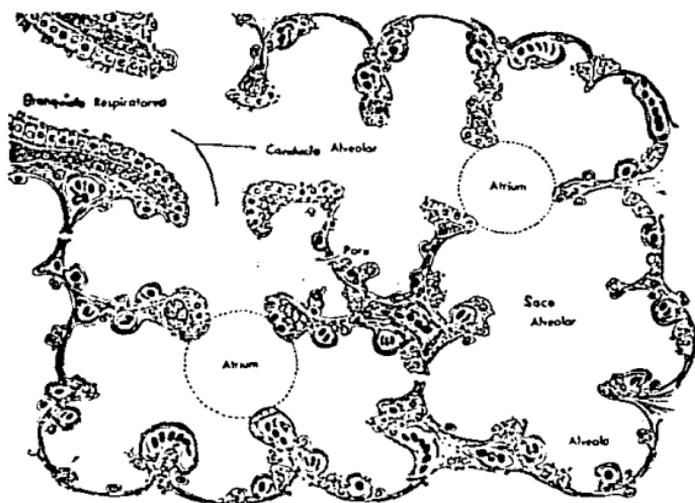


FIG. 8 REPRESENTACION MICROSCOPICA DE LA UNIDAD RESPIRATORIA DEL PULMON (tomado de Bloom, 1975).

Conductos alveolares. En cortes delgados vistos al microscopio óptico los conductos alveolares se observan como tubos delgados con paredes discontinuas. Estos siguen largos caminos tortuosos dando origen a varias ramas, las cuales vuelven a ramificarse. Finalmente se cierran en capas delgadas formando sacos que se abren solamente hacia la luz del conducto alveolar.

Sacos alveolares y alveolos. De los conductos alveolares se originan los sacos alveolares que comprenden de dos a cuatro o más alveolos. Los alveolos son sacos poliédricos con paredes delgadas que se abren en un lado. El aire puede difundir libremente desde los conductos alveolares hacia los sacos alveolares y dentro de las cavidades de los alveolos. La característica más sobresaliente de las paredes alveolares es una densa red de capilares que se anastomosan libremente de manera que muchos de los espacios entre ellos son muchos más pequeños que los diámetros de la luz del vaso. La pared del alveolo también contiene una red compacta de fibras reticulares, así como elásticas en menor cantidad que forman el armazón que sostiene las delgadas paredes de los sacos alveolares y sus numerosos capilares. Los capilares son relativamente delgados con respecto a la pared alveolar, de manera que se dirigen hacia adentro del alveolo y así, la mayor porción de su superficie está orientada hacia el aire alveolar. Las grandes fibras reticulares y elásticas ocupan una posición central en el septo interalveolar, junto con los capilares.

Existen pequeños orificios llamados poros alveolares que se encuentran en las delgadas paredes que separan alveolos adyacentes. Estas diminutas estructuras miden aproximadamente de 7 a 9 μm . de diámetro y se considera proporcionan una circulación colateral del aire que evita la atelectasia cuando los bronquiolos secundarios se obstruyen. Tienen la desventaja de proporcionar un medio para que las bacterias se diseminen de un alveolo a su vecino como sucede en la neumonía.

La boca de los sacos alveolares está rodeada por una banda ondulante de fibras colágenas. Estas fibras se continúan de un saco al siguiente y ayudan a dar algo de soporte a la pared del conducto alveolar. Las fibras colágenas se acompañan de fibras elásticas. La densa red de fibras reticulares dentro de las paredes de los alveolos y sacos alveolares es una continuación de las fibras colágenas.

RECUBRIMIENTO DE LOS ALVEOLOS. El epitelio alveolar está constituido por células epiteliales pulmonares planas (células alveolares pequeñas o neumocitos tipo I) y por numerosas células redondas o cúbicas en el recubrimiento las cuales son llamadas células septales o alveolares (células alveolares grandes, o neumocitos tipo II). (figura 9).

Las células epiteliales forman una capa continua a lo largo de la pared alveolar, interrumpida solamente en ocasiones por células alveolares que sobresalen en el espacio aéreo. Sus núcleos son apianados y se asemejan a los de las células endoteliales o mesoteliales.

Los neumocitos tipo II son elementos cúbicos o redondos que se observan con el microscopio de luz. Pueden ocupar nichos en las paredes alveolares. Se presentan solos o en grupos de dos o tres, poseen microvellosidades sobre la superficie libre y forman complejos de unión con células epiteliales alveolares planas. Por lo tanto se considera que forman parte del epitelio y no son solamente células de origen mesenquimático.

La característica citológica más sobresaliente de las células alveolares es la presencia de cuerpos densos de 0.2 a 1.0 μm . de diámetro que tienen una estructura interna formada de delgadas lamelas paralelas o concéntricas. Estos cuerpos multilamelares o citosomas vistos en el microscopio electrónico corresponden en número y localización a las vacuolas observadas en cortes histológicos de tejido pulmonar incluidos en parafina. Están limitados por una membrana, y sus reacciones histoquímicas

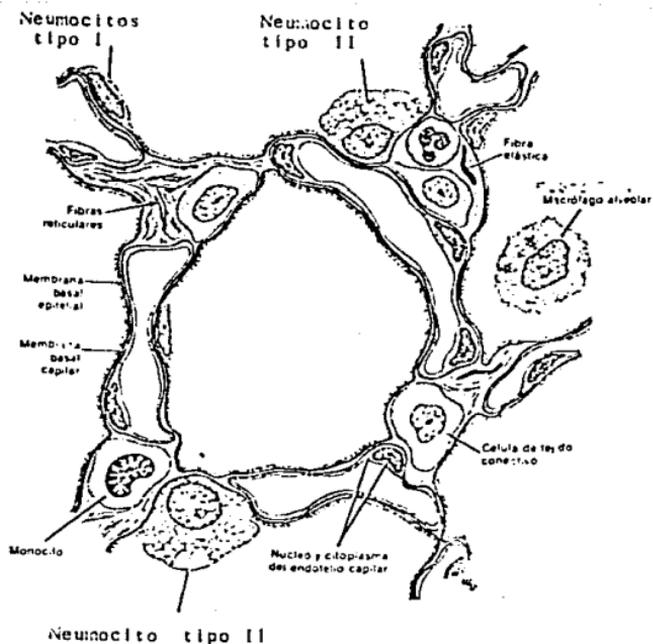


FIG. 9 ESTRUCTURA MICROSCÓPICA DE LA PARED ALVEOLAR.
(tomado de Ham, 1975).

y de solubilidad sugieren que son ricos en lípidos, particularmente fosfolípidos. Estos cuerpos se observan ocasionalmente en la superficie libre de la célula, donde al parecer descargan su contenido tal como lo hacen al liberar productos las células secretoras de varias glándulas. Actualmente estos cuerpos están sujetos a una intensa investigación ya que se sugiere que representan almacenes intracelulares de un material surfactante que se libera y extiende sobre la superficie del epitelio disminuyendo la tensión superficial lo que tiende a estabilizar el diámetro alveolar (2).

Además de los componentes señalados, en los cortes de pulmón se observan fagocitos libres que se encuentran en el alveolo, debido a que contienen partículas de polvo en su citoplasma son llamados algunas veces "células del carbón". En algunas enfermedades cardíacas donde hay congestión pulmonar vascular, estas células se llenan con gránulos de hemosiderina (resultado de la fagocitosis y degradación del pigmento sanguíneo). No hay un acuerdo general de cual es su origen sin embargo lo más aceptado es que al parecer la principal fuente de macrófagos son los monocitos sanguíneos que se transforman después de entrar en el alveolo en la etapa temprana de la enfermedad (2)

CORAZON.

En los mamíferos el corazón está situado en el centro del tórax, entre los pulmones; tiene forma cónica, y su vértice, vuelto hacia abajo e inclinado hacia la izquierda, se apoya por debajo en el diafragma y por delante en la pared torácica, en el quinto espacio intercostal izquierdo. Si se examina exteriormente se observan dos surcos que dividen su superficie en cuatro partes desiguales que corresponden a cuatro cavidades que existen en el interior separadas por tabiques: las dos superiores llamadas aurículas y las dos inferiores llamadas ventrículos. Las aurículas se nombran por su posición derecha e izquierda y tienen

sus paredes delgadas, mientras que los ventrículos, también llamados derecho e izquierdo, según su posición, las tienen gruesas y muy fuertes. Ni las aurículas, ni los ventrículos comunican entre sí directamente en el adulto, haciéndolo, en cambio, cada aurícula con el ventrículo del mismo lado, por un orificio denominado aurículo-ventricular.

El orificio aurículo-ventricular de cada lado está provisto de láminas elásticas denominadas válvulas, fijas por su base alrededor del orificio, y de cuyos bordes libres salen unas prolongaciones tendinosas que van a insertarse en la pared interna del ventrículo. La válvula del ventrículo izquierdo está formada por dos de estas láminas y se le llama bicúspide o mitral, porque su aspecto recuerda el de una mitra invertida. La válvula del ventrículo derecho está formada por tres láminas y se denomina válvula tricúspide.

Las paredes de aurículas y ventrículos están atravesadas por orificios de donde nacen o a donde van a parar los grandes vasos sanguíneos: de los ventrículos nacen siempre arterias y en las aurículas terminan siempre venas. El orificio de salida de las arterias está cerrado por tres válvulas llamadas sigmoideas o sigmoides, cuya forma es la de un nido de golondrina pegado a la pared arterial. De todas las venas que terminan en las aurículas ninguna tiene válvulas propiamente dichas (7) (figura 10).

El corazón se halla recubierto por un par de membranas de tejido conectivo fibroelástico, el pericardio y el epicardio, ambas membranas están revestidas de mesotelio. Entre el pericardio y el epicardio hay un espacio potencial, o cavidad pericárdica, que normalmente contiene hasta 50 ml de líquido. Este líquido lubricante se halla distribuido de manera que en la mayor parte de la cavidad solo forma una fina capa delgada y permite que el corazón se desplace libremente durante la contracción y la relajación.

El carácter del epicardio varía según las partes del corazón; su capa más superficial está constituida por tejido

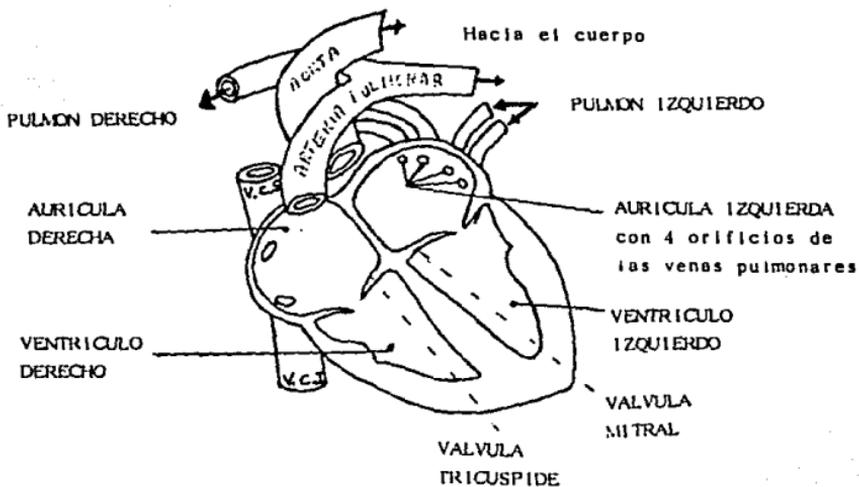


FIG. 10 CORTE VERTICAL ESQUEMATICO DEL CORAZON.

V.C.S. = vena cava superior, V.C.I. = vena cava inferior.
 (tomado de Cendrero, 1962).

conectivo ordinario. Este se halla recubierto de mesotelio y contiene algunos capilares sanguíneos, capilares linfáticos y fibras nerviosas. La capa más profunda del epicardio contiene vasos sanguíneos, de mayor calibre y es más rica en grasa; se continúa con el endomisio del músculo cardíaco subyacente.

El endocardio es una membrana que constituye un revestimiento completo para las cavidades auriculares y ventriculares; recubre todas las estructuras que se proyectan en el interior del corazón (válvulas, cuerdas tendinosas y músculos papilares). En general, el espesor del endocardio varía en proporción inversa al espesor del miocardio que reviste. El endocardio tiene tres capas. La más interna está formada por una membrana de tejido conectivo fino revestida de endotelio continuo con el que reviste los vasos que salen del corazón. La capa media es la más gruesa, está formada de tejido conectivo denso que contiene bastantes fibras elásticas, sobre todo en su parte interna. Estas fibras suelen hallarse dispuestas paralelamente a la superficie; en algunos lugares donde abundan, alternan con capas de fibras colágenas. En la parte más externa de esta capa puede haber cierto número de fibras musculares lisas. La tercera capa del endocardio, la más externa, está formada por tejido conectivo dispuesto irregularmente. Puede contener grasa. Esta capa contiene, así mismo, vasos sanguíneos y, en algunos lugares, fibras musculares cardíacas de tipo especial.

El miocardio es la capa o pared más gruesa del corazón, está compuesta de músculo cardíaco, formado por fibras musculares estriadas. Las fibras están formadas de unidades celulares unidas terminación con terminación por medio de uniones de superficie especiales llamadas discos intercalares, los cuales corren transversalmente a través de la fibra. Las fibras se bifurcan y conectan con fibras adyacentes para formar una compleja red tridimensional. El citoplasma de la fibra muscular cardíaca contiene miofibrillas, estas son las responsables del aspecto estriado del músculo cardíaco.

Cada fibra muscular cardiaca tiene, una membrana celular llamada sarcolema y un citoplasma que separa un poco entre sí las miofibrillas y que se denomina sarcoplasma. El sarcoplasma no tiene estrias transversas, pero sí ciertos organitos, como mitocondrias y reticulo endoplásmico liso. Los núcleos son ovales y están situados en el centro de la fibra. Las fibras musculares están encerradas cada una en una redecilla delicada de tejido conectivo que tiene núcleos de fibroblastos, los cuales a menudo son alargados como los de las fibras.

Los discos intercalares se observan como líneas transversales gruesas a intervalos regulares a lo largo de la fibra. Son poco visibles con tinciones hematoxilina-eosina, sin embargo se observan claramente en las preparaciones teñidas con hematoxilina férrica o con hematoxilina fosfotúngstica.

Con cierta frecuencia aparece después de la muerte una fragmentación de las fibras. Se observa en tal caso la presencia de puentes irregulares entre ellas, y a menudo dispuestos a la manera de una escalera. Entre las fibras musculares se encuentra un tejido conjuntivo laxo con capilares y vasos sanguíneos de cierto calibre (2,16).

MATERIALES Y METODO

MATERIALES EMPLEADOS.

REACTIVOS.

Aceite de inmersión
Acido clorhídrico concentrado
Alcohol etílico absoluto
Alcohol etílico del 96
Alumbre de potasio
Creosota de la Haya
Fenol
Formaldehído
Gelatina Q.P.
Hidróxido de amonio
Oxido de mercurio
Parafina de inclusión
Resina sintética
Tolueno
Xileno

COLORANTES

Eosina I.C. No. 45380 No 300 Sigma de México
Hematoxilina No. 738 Sigma de México

MATERIAL DE VIDRIO

Cajas de petri
Cajas de coloración
Cubre objetos
Embudos
Frascos goteros ambar
Matraces Erlenmeyer
Pipetas graduadas

Probetas graduadas
Vasos de precipitados

EQUIPO

Balanza Analítica Mettler capacidad 100.0 g
Baño de flotación con termostato. Scientific Products
Estufa Riosa model EC
Microscopio Carl-Zeiss Binocular
Microtomo AO 820 Rotatory

MATERIALES DIVERSOS

Canastilla para coloración
Cronómetro
Cuchilla para microtomo AO
Estuche de disección
Gasa
Hilasa
Lampara de alcohol
Mechero de Bunsen
Moldes para inclusión en parafina
Navaja para afeitar
Papel filtro
Pinceles
Rejilla de asbesto
Soporte en forma de triple

MATERIAL BIOLÓGICO.

Se trabajó con los pulmones y los corazones de 41 ratas wistar hembra adultas, proporcionados por la Dra. Ma. Estela Meléndez Camargo del Departamento de Farmacia de la E.N.C.B., los animales pertenecían al proyecto "Efecto de pesticidas sobre la capacidad de concentración urinaria y secreción de aniones orgánicos".

METODO.

Para el estudio del efecto subagudo se trabajó con 31 ratas que se distribuyeron en tres grupos: un grupo testigo, otro experimental cuyos animales fueron intoxicadas con el insecticida paratión y un tercer grupo en el cual se administró el insecticida toxafeno. La vía de administración utilizada fue la oral, utilizando como vehículo aceite de maíz. Al grupo testigo se le administró únicamente el vehículo. A los otros dos grupos se le administró la dosis subaguda correspondiente exponiéndolos a los insecticidas durante 1, 8 o 10 días. Las dosis utilizadas y la distribución de los animales establecida para la valoración del efecto de los insecticidas fueron las siguientes:

	GRUPO DOSIS	TESTIGO	PARATION (1.0 mg/kg)	TOXAFENO (18.0 mg/kg)
D	1	1,2,3	4,5,6	7,8,9
I				
A	8	1,2,3	4,5,6,7	8,9,10,11
S				
	10	1,2,3	4,5,6,7	8,9,10,11

Para el estudio del efecto agudo se trabajó con 10 ratas que se distribuyeron en 3 grupos; un grupo testigo con 2 animales, otro experimental con 3 animales para administrarles el insecticida paratión y otro grupo con 4 animales para el insecticida toxafeno. La dosis aguda utilizada y la distribución de los animales fue la siguiente:

	GRUPO DOSIS	TESTIGO	PARATION (4 mg/kg)	TOXAFENO (120 mg/kg)
		1,2	3,4,5	8,9,10,11,12

PREPARACION DE LOS CORTES EN PARAFINA.

Para realizar los cortes histológicos se procesaron los órganos por la técnica de inclusión en parafina (19). La cual consiste en:

1. Deshidratación de las muestras en una serie de alcohol etílico de concentraciones crecientes (desde 50 % hasta alcohol absoluto).
2. Imbibición de las piezas con un solvente de la parafina con la consecuente transparentación.
3. Por último, obtención de los bloques de inclusión con una parafina de punto de fusión de 57-60 ° C.

Cuando la parafina ha solidificado completamente se hacen los cortes histológicos con un grosor de 5 a 7 micras en el microtomo de inclusión en parafina, sacando seriados cada nueve o diez cortes.

Se obtuvieron 150 cortes para cada órgano. Se trabajó tanto el pulmón izquierdo como el derecho, en bloques independientes. Los cortes son introducidos en un baño de flotación y fijados al portaobjetos por medio de una solución al 1 % de gelatina mantenida a 52-54 °C en el baño de flotación.

Para asegurar la adhesión de los cortes se introducen en la estufa a 60 °C durante 24 horas aproximadamente.

Los portaobjetos se marcaron de la siguiente forma: órgano (solo la inicial), número de rata, día. Por ejemplo:

C, 5, 1

lo que significa Corazón de la rata No. 5 del día 1.

TINCION Y MONTAJE.

Para eliminar la parafina e hidratar el corte se hace el procedimiento inverso colocando el corte en xilol luego en alcohol absoluto para suprimir el xilol, después en alcoholes cada vez menos concentrados y finalmente en agua.

Luego se tiñe con colorante en solución acuosa. La técnica de coloración utilizada fue la de hematoxilina-eosina, que es una técnica topográfica que nos permite observar en forma general entre otras cosas las células que constituyen los tejidos, su tamaño, forma y características nucleares y citoplásmicas infiltración leucocitaria y eritrocitaria, necrosis, etc.

RESULTADOS DE LA VALORACION HISTOLOGICA

RESULTADOS DE PULMON.

Para realizar la valoración histológica de las preparaciones de pulmón se busca la presencia de bronquios provisto, de epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado; la musculatura circular de la pared y los cartílagos bronquiales, así como las ramas de las arterias pulmonares, dispuestas solo en la vecindad de los bronquios.

Las directrices para el diagnóstico de las alteraciones patológicas son: la afección del tejido pulmonar es de carácter focal o difuso? Las estructuras cavitarias (alvéolos, bronquios) están dilatadas o no? El tejido pulmonar está conservado o destruido? Las lesiones patológicas afectan la luz de los alveolos o bronquios, o bien su pared? (33).

Los resultados para cada día se reportan en dos tablas. En las tablas con número non se marca con signo (+) o (-) la presencia o ausencia de cada una de las alteraciones listadas en el margen izquierdo. Se hacen columnas para cada una de las ratas con su número correspondiente y se encabezan con el nombre del insecticida usado para intoxicarlas. Como se revisó tanto el pulmón izquierdo como el derecho hay para cada rata dos columnas. La letra D indica el pulmón derecho y la letra I el izquierdo.

En las tablas con número par hay una columna para paratión, toxafeno y otra para los testigos. Se muestra del total de ratas intoxicadas con paratión, cuantas de ellas presentan estas alteraciones representando esto en forma de número fraccionario, tanto para pulmón derecho (D) como par el izquierdo (I). Lo mismo se hace en la columna del toxafeno y la de los testigos.

Para realizar el análisis estadístico se agrupan los

resultados de todos los días en una sola tabla, se hace la prueba de chi cuadrada para cada una de las zonas revisadas del pulmón comparandolas con la de los testigos y por último se muestra en graficas de barras el porcentaje de alteraciones encontrado por regiones en cada grupo de animales.

Los resultados de los testigos se encuentran en las primeras columnas de cada una de las siguientes 8 tablas.

Los testigos muestran la histología descrita en la bibliografía; bronquiolos con la luz del conducto limpia. La mucosa con epitelio cilíndrico y células caliciformes intercaladas. La capa muscular eosinófila, tejido linfoide y vasos sanguíneos. En alveolos se observa una capa epitelial con numerosos capilares intercalados entre las células alveolares.

Los únicos controles que presentan alguna alteración son, la rata 2 del día 1; congestión patente por la gran cantidad de eritrocitos en la luz alveolar y bronquial, así como numerosos macrófagos conteniendo hemosiderina, esto tanto en el pulmón derecho como en el izquierdo. El segundo caso es, para la rata 3 del mismo día con hiperplasia ganglionar.

En el día 8 dos de los testigos presentan escasa secreción en la luz bronquilar.

En el día 10 todos los testigos muestran una estructura histológica normal.

En los pulmones de las ratas usadas como testigos de la dosis letal media se encuentran los bronquios con un poco de secreción, sin embargo los conductos y el espacio alveolar están limpios y no se observa ningún daño en el parénquima pulmonar.

DIA 1

Resumiendo los resultados de la tabla 1 y 2 correspondientes a el primer día se observa que los efectos de los insecticidas comienzan a ser evidentes. Al comparar los pulmones de las ratas intoxicadas con los testigos, en el caso del insecticida paratión se observa en bronquiolos :

- un aumento en la secreción
- descamación, donde antes se tenían vías aéreas limpias hay ahora presencia de células desprendidas, moco y algunos eritrocitos en la luz.
- en una de las tres ratas se ve hipertrofia bronquial, la cual se muestra en la fotografía 1.

En el parenquima pulmonar se encuentran vasos congestionados y macrófagos cargados con un pigmento que presumiblemente correspondía a hemosiderina.

En el caso de las ratas intoxicadas con toxafeno, se ve en bronquiolos:

- aumento de la secreción.
- descamación de las células epiteliales
- hiperplasia ganglionar y congestión vascular.

TABLA 1

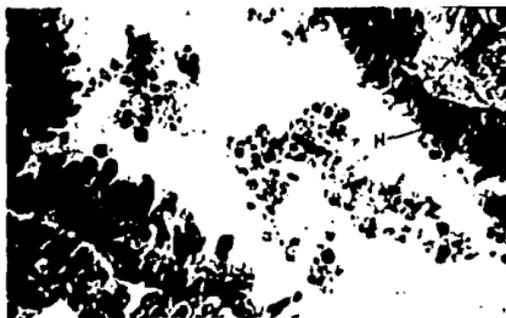
ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMÓN DERECHO (D) E IZQUIERDO (I)
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON PARATION (1 mg/kg) Y TOXAFENO
(18 mg/kg) CORRESPONDIENTE A LAS 24 HORAS DE TRATAMIENTO.

RATA	TESTIGOS			PARATION			TOXAFENO		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pulmón	D	I	D	D	I	D	D	I	D
Bronquios									
Secreción	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Descamación	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Hipertrofia	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Alveolos									
Edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hipertrofia	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Macrófagos con pigmento	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Capilares hiperémicos	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Vasos sanguíneos									
Hipertrofia capa media	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema de la capa media	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hiperplasia ganglionar	-	-	+	-	-	-	+	-	+

TABLA 2

TASA DE LAS ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMÓN A LAS 24 HORAS DE
LA ADMINISTRACIÓN DE LA DOSIS SUBAGUDA DE PARATION (1 mg/kg) Y
TOXAFENO (18 mg/kg) (RATAS AFECTADAS /TOTAL DE RATAS INTOXICADAS).

Pulmón	TESTIGOS		PARATION		TOXAFENO	
	D	I	D	I	D	I
Bronquios						
Secreción	1/3	1/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Descamación	0/3	0/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Hipertrofia	0/3	0/3	1/3	1/3	0/3	0/3
Alveolos						
Hipertrofia	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Macrófagos con pigmento	1/3	1/3	2/3	2/3	1/3	1/3
Capilares hiperémicos	1/3	1/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Vasos sanguíneos						
Hipertrofia capa media	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Edema de la capa media	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Hiperplasia ganglionar	1/3	1/3	0/3	0/3	2/3	1/3



FOTOGRAFIA 1.

HIPERTROFIA DE CELULAS BRONQUIALES (H). 40 X. (Tec. H. E.)

INSECTICIDA PARATION (1mg/kg)

DIA 1 (P6, ID)

DIA 8

Los resultados para el día 8 se muestran en las tablas 3 y 4.

En las ratas intoxicadas con paratión se presenta en bronquiolos:

- aumento de la secreción y descamación del epitelio bronquial.
- en una de las ratas se observa hiper cromasia bronquiolar, la cual se muestra en la fotografía 2.

En alveolos:

- se observa edema de células alveolares, así como pérdida del patrón alveolar con espacios alveolares normales y espacios alveolares reducidos.

Se encuentra además:

- capilares hiperémicos
- reacción inflamatoria alrededor de vasos sanguíneos.
- hiperplasia ganglionar.
- algunos macrófagos agrupados en la luz alveolar, como se muestra en la fotografía 3, los cuales muestran un citoplasma esponjoso a diferencia de otros vistos cargados con pigmento.

Para las ratas intoxicadas con toxafeno en bronquiolos se observa:

- aumento de la secreción.
- aumento en el número de células caliciformes.

En alveolos hay:

- edema de células alveolares
- parenquima irregular, como se muestra en la fotografía 4.

TABLE 3

ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMON DERECHO (D) E IZQUIERDO (I)
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON PARATION (1mg/kg) Y TOXAFENO
(18 mg/kg) CORRESPONDIENTE AL OCTAVO DIA DE TRATAMIENTO.

RATA	TESTIGOS			PARATION				TOXAFENO				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
PULMON	D	I	D	D	I	D	D	I	D	I	D	I
Bronq.												
Secrec.	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Descam.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Hipercr.	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Alveolos												
Edema	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Hiperetro-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ma irreg.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Macrof.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Capilar												
Hiperem.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Vasos												
sanguiferos												
Hipertr.												
capa												
media	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema de												
la capa												
media	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hiperplasia,												
ganglio.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

Bronq. = bronquiolos Secrec. = secreción Descam. = descamación
Macrof. = macrófagos con pigmento Hipercr. = hiperchromasia.
Hiperetrof. = hipertrofia Hiperplasia. ganglio. = hiperplasia ganglionar

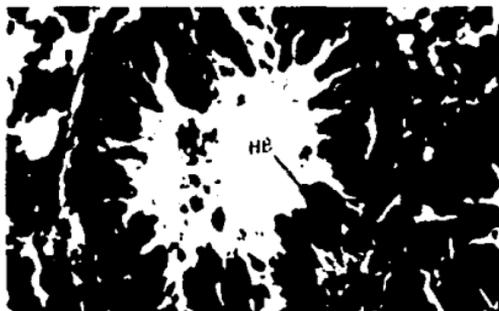
TABLE 4

TASA DE ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMON DERECHO (D) E IZQUIERDO (I)
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON PARATION (1 mg/kg) Y TOXAFENO (18 mg/kg)
CORRESPONDIENTES AL OCTAVO DIA DE TRATAMIENTO
(RATAS AFECTADAS/TOTAL DE RATAS INTOXICADAS).

	TESTIGOS		PARATION		TOXAFENO	
	D	I	D	I	D	I
Pulmón						
Bronquiolos						
Secreción	2/3	2/3	4/4	4/4	4/4	4/4
Descamación	0/3	0/3	4/4	4/4	4/4	4/4
Hiperchromasia	0/3	0/3	1/4	1/4	0/3	0/3
Alveolos						
Edema	0/3	0/3	1/4	1/4	2/4	2/4
Hiperchrom.	0/3	0/3	1/4	1/4	0/4	0/4
Pneumonia						
Irregular	0/3	0/3	3/4	3/4	3/4	3/4
Macrófagos con pigmento	0/3	0/3	4/4	4/4	4/4	4/4
Capilares hiperémicos	0/3	0/3	4/4	4/4	4/4	4/4
Vasos sanguiferos						
Hipertrofia capa media	0/3	0/3	0/4	0/4	3/4	2/4
Edema de la capa media	0/3	0/3	0/4	0/4	0/4	0/4
Hiperplasia ganglionar	0/3	0/3	4/4	4/4	4/4	4/4

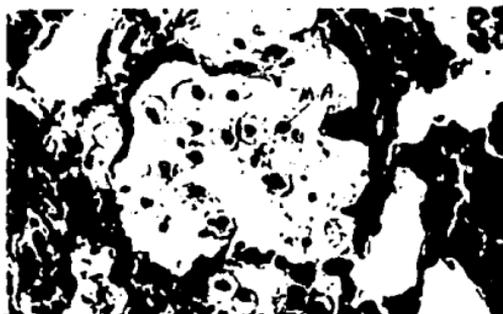
Además,

- se ven capilares hiperémicos y se encuentra en dos de las cuatro ratas hipertrofia de la capa media de los vasos sanguíneos.
- y se observa hiperplasia del tejido linfóide en todos los pulmones.



FOTOGRAFIA 2.

HIPERCROMASIA BRONQUIOLAR (HB), 40 X. (Tec. H. E.)
INSECTICIDA PARATION, (1 mg/kg)
DIA 8 (P5,81).



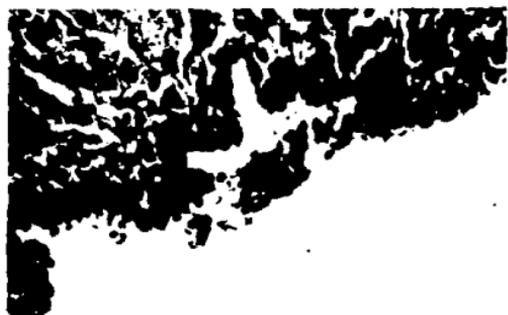
FOTOGRAFIA 3.

MACROFAGOS CON CITOPLASMA ESPONJOSO EN
ALVEOLOS (M.A.) 40 X. (Tec. H. E.)
INSECTICIDA PARATION, (1 mg/kg)
DIA 8 (P7,8D).



FOTOGRAFIA 4.

ESPACIOS ALVEOLARES NORMALES (EN) Y ESPACIOS ALVEOLARES
REDUCIDOS (ER), 10X. (Tec. H.E.)
INSECTICIDA TOXAFENO, (18 mg/kg)
DIA 8 (P8,8I).



FOTOGRAFIA 8.

ERITROCITOS EN BRONQUIOLO, 40 X.
INSECTICIDA PARATION, (LD_{50} 3PD).
 LD_{50} .

DIA 10

De los resultados de las tablas 5 y 6 se resume que en las ratas intoxicadas con paratión se presenta en bronquiolos:

- aumento de la secreción y descamación
- descamación epitelial
- aumento en el número de células caliciformes
- así como hipertrofia y edema del epitelio bronquiolar.

En alveolos:

- solo se observa un poco de edema de células alveolares

Además se ven:

- capilares hiperémicos.
- edema e hipertrofia de la capa media de vasos sanguíneos,
- hiperplasia ganglionar la cual invade el epitelio bronquial como se puede observar en las fotografías 5 y 6. En la primera a 2.5 X se observa como el ganglio ha rodeado completamente el bronquio y en la segunda que está tomada a 40X y que pertenece al mismo bronquio se ve la desaparición casi total del epitelio.

En los pulmones de las ratas intoxicadas con toxafeno se observa a nivel de bronquiolos secreción, descamación. Además hay en el parénquima pulmonar congestión, hiperplasia ganglionar, un poco de edema alveolar y en los vasos sanguíneos hipertrofia y edema de la capa media.

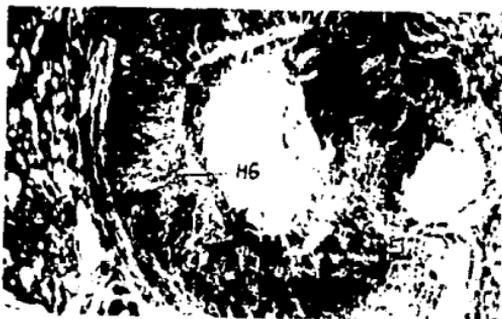
TABLA 5
ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMÓN DERECHO (D) E IZQUIERDO (I)
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON PARATION (1mg/kg) Y TOXAFENO
(18 mg/kg) CORRESPONDIENTES AL DECIMO DIA DE TRATAMIENTO.

RATA	TESTIGOS			PARATION				TOXAFENO			
	1	2	3	4	5	7	8	9	10	11	
PULMÓN	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	
Bronquios											
Secreción	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Descamación	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	
Hipertrofia	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
Edema	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
Alveolos											
Edema	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
Macrófagos											
con pigmento	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
Capilares hiperémicos	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
Vasos sanguíneos											
Hipertrofia de la capa media	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
Edema de la capa media	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
Hiperplasia ganglionar	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	

TABLA 6

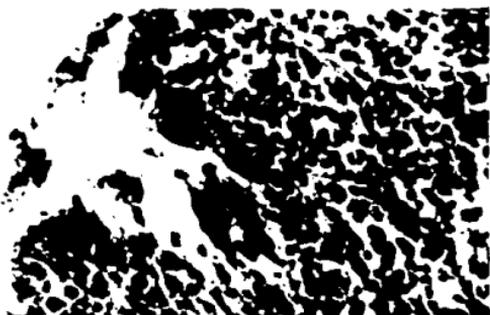
RESULTADOS PULMONARES DE LA INTOXICACION CON PARATION (1 mg/kg)
Y TOXAFENO (18 mg/kg) CORRESPONDIENTES AL DECIMO DIA.
EN RELACION RATAS AFECTADAS/RATAS INTOXICADAS

Pulmón	TESTIGOS		PARATION		TOXAFENO	
	D	I	D	I	D	I
Bronquios						
Secreción	2/3	2/3	3/3	3/3	4/4	4/4
Descamación	0/3	0/3	2/3	2/3	3/4	3/4
Hipertrofia	0/3	0/3	1/3	1/3	0/4	0/4
Edema	0/3	0/3	1/3	1/3	0/4	0/4
Alveolos						
Eritrocitos	0/3	0/3	0/3	0/3	0/4	0/4
Edema	0/3	0/3	1/3	1/3	2/4	2/4
Macrófagos con pigmento	0/3	0/3	3/3	3/3	4/4	4/4
Capilares hiperémicos	0/3	0/3	3/3	3/3	3/4	3/4
Vasos sanguíneos						
Hipertrofia capa media	0/3	0/3	1/3	1/3	3/4	3/4
Edema de la capa media	0/3	0/3	1/3	1/3	1/4	1/4
Hiperplasia ganglionar	0/3	0/3	3/3	3/3	4/4	4/4



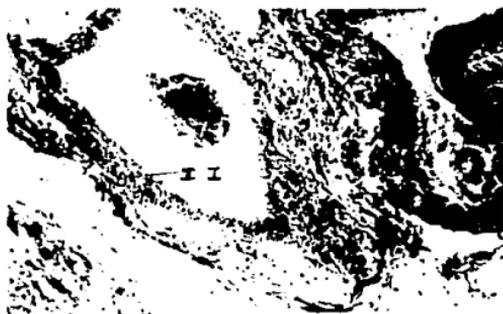
FOTOGRAFIA 5.

HIPERPLASIA GANGLIONAR (HG), 2.5 X. (Tec. H. E.)
INSECTICIDA PARATION, (1 mg/kg)
DIA 10 (P7,10 I).



FOTOGRAFIA 6.

HIPERPLASIA GANGLIONAR (HG), 40X. (Tec. H. E.)
INSECTICIDA PARATION, (1 mg/kg)
DIA 10 (P7,10 D).



FOTOGRAFIA 7.

BRONQUIO CON INFILTRADO INFLAMATORIO (I.I.), 10 X.
INSECTICIDA PARATION, (1 mg/kg) (Tec. H. E.)
DIA 10 (P7,10 D).

DOSIS LETAL MEDIA (LD₅₀)

En las tablas 7 y 8 se muestran los resultados de la intoxicación con la dosis letal media para cada uno de los insecticidas estudiados, así como los de las ratas testigos.

En los pulmones de las ratas intoxicadas con paratión se observan en bronquiolos :

- células caliciformes hiperactivas
- secreción
- descamación
- eritrocitos en la luz.

En alveolos:

- edema de células alveolares, como se muestra en la fotografía 8.
- capilares hiperémicos.

En los pulmones de las ratas intoxicadas con toxafeno se ven efectos similares, el edema alveolar es escaso y se localizaba cercano a la pleura. También se observa congestión y secreción con células caliciforme hiperactivas.

Para realizar la prueba estadística y determinar si el daño causado en pulmón es significativo se agrupan los resultados parenquima pulmonar por regiones : bronquial, alveolar, capilar y ganglionar (tablas 11 y 12).

TABLA 7

ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMÓN DERECHO (D) E IZQUIERDO (I)
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON LA DOSIS LETAL MEDIA CORRESPONDIENTE
DE PARATION (4 mg/kg) Y TOXAFENO (120 mg/kg)

RATA PULMÓN	TESTIGOS				PARATION								TOXAFENO									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Secreción	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Descamación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hipertrofia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alveolos																						
Edema	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hipertrofia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vasos sanguíneos																						
Hiperémicos	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hipertrofia capa media	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema de la capa media	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hiperplasia ganglionar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TABLA 8

ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMÓN DERECHO (D) E IZQUIERDO (I)
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON LA DOSIS LETAL MEDIA
CORRESPONDIENTE DE PARATION (4 mg/kg) Y TOXAFENO (120 mg/kg)
(RELACION RATAS AFECTADAS/ TOTAL DE RATAS INTOXICADAS)

Pulmón	TESTIGOS		PARATION		TOXAFENO	
	D	I	D	I	D	I
Bronquiolos						
Secreción	2/2	1/2	2/2	2/2	5/5	5/5
Descamación	1/2	0/2	2/2	2/2	5/5	5/5
Hipertrofia	0/2	0/2	0/2	0/2	0/5	0/5
Edema	0/2	0/2	0/2	0/2	0/5	0/5
Alveolos						
Edema	0/2	0/2	2/2	2/2	5/5	5/5
Hipertrofia	0/2	0/2	0/2	0/2	0/5	0/5
Vasos sanguíneos						
Hiperémicos	0/2	0/2	2/2	2/2	5/5	5/5
Hipertrofia capa media	0/2	0/2	0/2	0/2	0/5	0/5
Edema de la capa media	0/2	0/2	0/2	0/2	0/5	0/5
Hiperplasia ganglionar	0/2	0/2	0/2	0/2	0/5	0/5



FOTOGRAFIA 8.

EDEMA DE CELULAS ALVEOLARES (E.A.), 40 X. (Tec. H. E.)

INSECTICIDA PARATION (1 mg/kg)

LD₅₀ (LD₅₀ 3PD).

TABLA 9
RESUMEN DE LAS ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMON
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON PARATHION

DIA 1	DIA 8	DIA 10	LD ₅₀
SECRECION DESCAMACION	SECRECION DESCAMACION	SECRECION DESCAMACION	SECRECION DESCAMACION
HIPERTROFIA cels. bronq.	HIPERCROMACIA de cels. bronq.	HIPERTROFIA EDEMA de celu- las bronq.	
	EDEMA de cels. alveolares PARENQUIMA Irregular	EDEMA de cels. alveolares	EDEMA Paredes alv. gruesas y otras delgadas
CONGESTION	CONGESTION	CONGESTION	CONGESTION
		HIPERTROFIA y EDEMA de capa media de v. sanguineos	
	Rx. INFLAMATORIA alrededor de v. sanguineos.	Rx. INFLAMATORIA	
MACROFAGOS	MACROFAGOS	MACROFAGOS	MACROFAGOS
	HIPERPLASIA GANGLIONAR	HIPERPLASIA GANGLIONAR	

TABLA 10
RESUMEN DE LAS ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMON
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON TOXAFENO

DIA 1	DIA 8	DIA 10	LD ₅₀
SECRECION	SECRECION	SECRECION	SECRECION
	EDEMA de cels. alveolares PARENQUIMA Irregular	EDEMA de cels. alveolares	
CONGESTION	CONGESTION	CONGESTION	CONGESTION
	HIPERTROFIA de la media de vasos sanguineos	HIPERTROFIA y EDEMA de capa media de v. sanguineos	
	Rx. INFLAMATORIA alrededor de v. sanguineos.	Rx. INFLAMATORIA	
MACROFAGOS	MACROFAGOS	MACROFAGOS	MACROFAGOS
HIPERPLASIA GANGLIONAR	HIPERPLASIA GANGLIONAR	HIPERPLASIA GANGLIONAR	

TABLA 11

TASA DE ALTERACIONES ENCONTRADAS EN LOS PULMONES DE LAS RATAS
INTOXICADAS CON TOXAFENO Y PARATHION CON LA DOSIS SUBLETA Y LA
DOSIS LETAL MEDIA (RATAS AFECTADAS /TOTAL DE RATAS INTOXICADAS)

	24 HORAS			8avo DIA			10avo. DIA			LD ₅₀		
	TEST.	PAR.	TOX.	TEST.	PAR.	TOX.	TEST.	PAR.	TOX.	TEST.	PAR.	TOX.
Bronquias												
Secreción	1/3	3/3	3/3	3/3	4/4	4/4	3/3	3/3	4/4	3/2	3/2	5/5
Descomación	0/3	3/3	3/3	0/3	4/4	4/4	0/3	3/3	3/4	1/2	3/2	5/5
Hipertrofia	0/3	1/3	0/3	0/3	0/4	0/4	0/3	1/3	0/4	0/2	0/2	0/3
Hipercromasia	0/3	0/3	0/3	0/3	1/4	0/4	0/3	0/3	0/4	0/3	0/2	0/3
Edema	0/3	0/3	0/3	0/3	0/4	0/4	0/3	1/3	0/4	0/2	0/2	0/3
Alveolos												
Edema	0/3	0/3	0/3	0/3	1/4	3/4	0/3	1/3	2/4	0/2	2/3	5/5
Hipertrofia	0/3	0/3	0/3	0/3	1/4	3/4	0/3	0/3	0/4	0/3	0/2	0/3
Hipercromasia	0/3	0/3	0/3	0/3	1/4	0/4	0/3	0/3	0/4	0/2	0/2	0/3
Parénquima												
Irregular	0/3	0/3	0/3	0/3	3/4	3/4	0/3	0/3	0/4	0/3	0/2	0/3
Macrófagos												
con pigmento	1/3	2/3	1/3	0/3	4/4	4/4	0/3	3/3	4/4	0/2	0/2	0/3
Capilares												
hipertrofos	1/3	3/3	3/3	0/3	4/4	4/4	0/3	3/3	3/4	0/2	0/2	0/3
Vasos												
angustados												
Hipertrofos	0/3	0/3	0/3	0/3	0/4	0/4	0/3	0/3	0/4	0/3	3/2	5/5
Hipertrofia de												
la capa media	2/3	0/3	0/3	0/3	0/4	3/4	0/3	1/3	4/4	0/2	0/2	0/3
Edema de la												
capa media	0/3	0/3	0/3	0/3	0/4	0/4	0/3	1/3	1/4	0/2	0/2	0/3
Hiperplasia												
nódulos linf.	1/3	0/3	3/3	0/3	4/4	4/4	0/3	3/3	4/4	0/2	0/2	0/3

TABLA 12

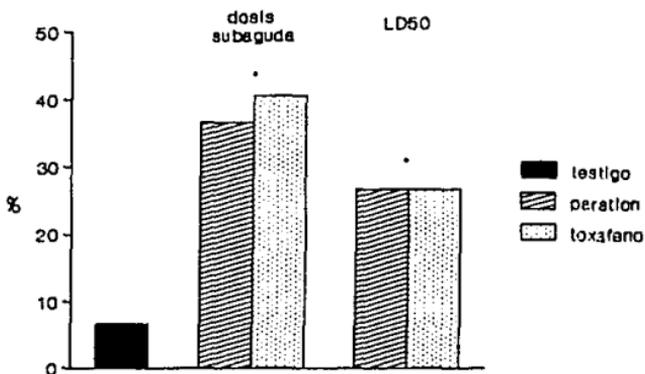
RELACION Y POR CIENTO DE LAS ALTERACIONES ENCONTRADAS EN
LOS PULMONES DE LAS RATAS INTOXICADAS CON PARATION Y TOXAFENO

PULMON	TESTIGOS	DOSIS SUBAGUDA		DOSIS LETAL MEDIA	
		PARATION (1 mg/kg)	TOXAFENO (8 mg/kg)	PARATION (4 mg/kg)	TOXAFENO (120 mg/kg)
BRONQUIOS	8/55 (14.54 %)	20/30 (66.67 %)*	21/33 (63.64 %)*	4/10 (40.0 %)	10/25 (40.0 %)*
ALVEOLOS	2/66 (3.03 %)	26/60 (43.3 %)*	28/66 (42.4 %)*	2/12 (16.6 %)	5/30 (16.6 %)
VASOS SANGUINEOS	0/33 (0 %)	2/30 (6.66 %)	8/35 (22.85 %)*	2/6 (33.3 %)	5/15 (33.3 %)*
NODULOS LINFATICOS	1/11 (9.1 %)	7/10 (70.0 %)*	10/11 (90.9 %)*	0/2 (0 %)	0/5 (0 %)
SUMA TOTAL	16/85 (18.8 %)	55/150 (36.6 %)*	67/105 (63.8 %)*	8/30 (26.6 %)*	20/75 (26.6 %)*

p < 0.05 vs testigos.
Prueba de Chi cuadrado.

GRAFICA 1

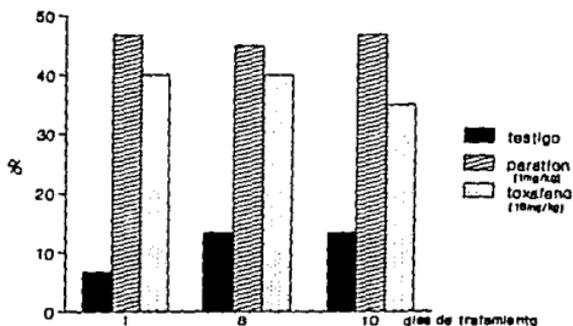
PORCIENTO DE ALTERACIONES ENCONTRADAS EN PULMON DE RATAS TRATADAS CON PARATHION Y TOXAFENO



*P<0.05 vs testigo

GRAFICA II

**PORCIENTO DE ALTERACIONES ENCONTRADAS EN
BRONQUIOS DE RATAS TRATADAS CON
PARATION Y TOXAFENO (dosis subaguda)**



GRAFICA III

**PORCIENTO DE ALTERACIONES ENCONTRADAS EN
VASOS SANGUINEOS DE RATAS TRATADAS CON
PARATION Y TOXAFENO (dosis subaguda)**



RESULTADOS DE CORAZON.

Para enjuiciar las alteraciones patológicas de la musculatura cardiaca se presta atención al grosor de las fibras, presencia de sustancias extrañas depositadas en el sarcoplasma, núcleos de las células y elementos celulares del intersticio, de acuerdo con Sandritter (30).

Los resultados de corazón se muestran en las tablas: 13, 14, 15 y 16, en las cuales se marca con signo (+) o (-) la presencia, en el primer caso, o la ausencia, en el segundo, de las alteraciones listadas en el margen izquierdo. En las tablas 17 y 18 se resumen las alteraciones observadas en cada día, para cada insecticida. Después en la tabla 19 se hace un conteo de los resultados para determinar el número de órganos revisados que presentan las lesiones. Posteriormente los resultados se agrupan por regiones para compararlos con los encontrados en las ratas testigo y posteriormente hacer el análisis estadístico por medio de la prueba de χ^2 cuadrada (Tabla 20). Por último se muestran en graficas de barras los porcentajes de alteraciones encontradas en cada grupo de animales.

Los testigos revisados en el presente trabajo muestran la histología descrita en la bibliografía. Una musculatura estriada con núcleos de forma ovalada dispuestos en el centro de las fibras. Los discos intercalares no se ven claramente sin embargo en uno de los cortes se aprecia una fragmentación de la fibra en forma de escalera. Entre las fibras musculares se encuentra tejido conjuntivo laxo con capilares y vasos sanguíneos.

DIA 1.

Los resultados de corazón para este día se muestran en la tabla 13.

Para este día en las ratas intoxicadas con paratión se observa en la musculatura cardiaca fibras eosinófilas y otras con un poco de edema. Las alteraciones nucleares encontradas, en 2 de los 3 corazones revisados, son picnosis y cariórrexis. Sumado a esto hay vasos congestionados.

En los órganos de las ratas intoxicadas con toxafeno se detectan alteraciones similares a las vistas con paratión como edema y eosinofilia en las fibras. Las alteraciones nucleares son picnosis, cariórrexis y cariólisis. También se observa congestión.

DIA 8

Resumiendo los resultados que se muestran en la tabla 14 correspondiente a los corazones del día 8 se observa para las ratas intoxicadas con paratión:

- musculatura cardiaca con fibras hialinizadas, algunas vacuoladas y en solo 2 de los 3 órganos se encuentran fibras eosinofilas.
- No se detectan alteraciones nucleares visibles, ni células intersticiales.

Para toxafeno :

TABLA 13

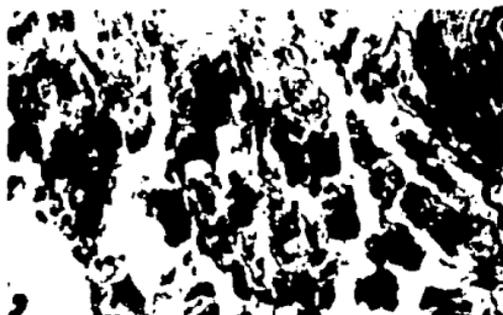
ALTERACIONES ENCONTRADAS EN EL CORAZON DE LAS RATAS INTOXICADAS
CON PARATION (1 mg/kg) Y TOXAFENO (18 mg/kg)
CORRESPONDIENTES A LAS 24 HRS.

	TESTIGOS			PARATION			TOXAFENO		
RATAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
FIBRAS									
EDEMA	-	-	-	+	+	+	+	-	-
HIALINIZACION	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EOSINOFILIA	-	-	-	+	+	-	+	+	-
NUCLEO									
PICNOSIS	-	-	-	-	+	+	+	-	-
CARICORREXIS	-	-	-	+	-	-	-	+	-
CARICOLISIS	-	-	-	-	-	-	+	-	-
CONGESTION	-	-	-	+	+	+	+	-	-

TABLA 14

ALTERACIONES ENCONTRADAS EN LOS CORAZONES DE LAS RATAS
INTOXICADAS CON PARATION (1 mg/kg) Y TOXAFENO (18 mg/kg)
DESPUES DE OCHO DIAS DE TRATAMIENTO.

	TESTIGOS			PARATION			TOXAFENO		
RATAS	1	2	3	5	6	7	8	9	
FIBRAS									
VASCULIZACION	-	-	-	+	+	-	+	-	
HIALINIZACION	-	-	-	-	+	+	+	+	
EOSINOFILIAS	-	-	-	-	+	+	+	+	
NUCLEO									
PICNOSIS	-	-	-	-	+	+	-	-	
CARICORREXIS	-	-	-	-	+	+	-	-	
CARICOLISIS	-	-	-	-	+	+	-	-	
CONGESTION	-	-	-	-	+	+	-	-	



FOTOGRAFIA 9.

CARIOLISIS 40 X. (Tec. H. E.)
INSECTICIDA TOXAFENO (18 mg/kg)
DIA 10 (C10,10)



FOTOGRAFIA 10

FIBRAS CARDIACAS CON NUCLEO PIKNOTICO (Tec. H. E.)
INSECTICIDA TOXAFENO (120 mg/kg)
LD₅₀

TABLA 17

RESUMEN DE LAS ALTERACIONES ENCONTRADAS EN LOS CORAZONES
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON PARATION

DIA 1	DIA 8	DIA 10	LD ₅₀
EDEMA	VACUOLIZACION	VACUOLIZACION	VACUOLIZACION
EOSINOFILIA	EOSINOFILIA		EOSINOFILAS
	HTALINIZACION	HTALINIZACION	
			NECROSIS
	PLEOMORFISMO NUCLEAR	PLEOMORFISMO NUCLEAR	PLEOMORFISMO NUCLEAR
PIQNOSIS			
CARLORREXIS			
CONGESTION	CONGESTION		CONGESTION

TABLA 18

RESUMEN DE LAS ALTERACIONES ENCONTRADAS EN LOS CORAZONES
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON TOKAFENO

DIA 1	DIA 8	DIA 10	LD ₅₀
EDEMA	VACUOLIZACION	VACUOLIZACION	VACUOLIZACION
EOSINOFILIA	EOSINOFILIA		EOSINOFILIA
	HTALINIZACION	HTALINIZACION	
			NECROSIS
			PLEOMORFISMO NUCLEAR
PIQNOSIS			
CARLORREXIS		CARLORREXIS	
CONGESTION	CONGESTION	CONGESTION	CONGESTION

TABLA 19

TASA DE LAS ALTERACIONES ENCONTRADAS EN LOS CORAZONES
DE LAS RATAS INTOXICADAS CON PARATION Y TOXAFENO
CON LA DOSIS SUBAGUDA Y LA DOSIS LETAL MEDIA

	24 HORAS			8avo. DIA			10cimo DIA			LD ₅₀		
	TEST.	PARAT.	TOX.	TEST.	PARAT.	TOX.	TEST.	PARAT.	TOX.	TEST.	PARAT.	TOX.
FIBRAS												
VACUOLIZACION	0/3	0/3	0/2	0/3	2/3	1/3	0/3	1/3	1/2	0/2	1/3	3/6
EDDMA	0/3	2/3	1/3	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/2	0/2	0/3	0/6
HIALINIZACION	0/3	0/3	0/2	0/3	2/3	2/3	0/3	3/3	2/2	0/2	0/3	1/6
EOSINOFILIA	0/3	2/3	1/2	0/3	2/3	3/2	0/3	0/3	1/2	0/2	2/3	0/6
NUCLEO												
PLEOMORFISMO	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/2	0/3	1/3	0/2	0/3	2/3	2/6
PICNOSIS	0/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/2	0/2	0/3	1/6
CARIORREXIS	0/3	1/3	1/2	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/2	0/2	0/3	0/6
CARIOLISIS	0/3	0/3	1/2	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	1/2	0/2	0/3	0/6
CONGESTION	0/3	3/3	1/2	0/3	1/3	1/2	0/3	0/3	0/2	0/2	2/3	5/6

TABLA 20

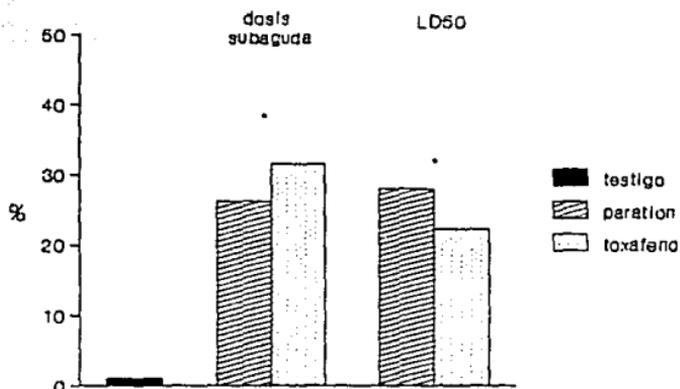
TASA Y POR CIENTO DE LAS ALTERACIONES ENCONTRADAS EN LOS
CORAZONES DE LAS RATAS INTOXICADAS CON PARATION Y TOXAFENO

	TESTIGO	DOSIS SUBAGUDA		DOSIS LETAL MEDIA	
		PARATION (1 mg/kg)	TOXAFENO (18 mg/kg)	PARATION (4 mg/kg)	TOXAFENO (120 mg/kg)
FIBRA CARDIACA	0/44 (0 %)	13/28 (46.4 %) *	11/24 (45.8 %) *	3/12 (25 %) *	4/24 (16.6 %) *
NUCLEO	0/44 (0 %)	3/28 (10.7 %)	4/24 (16.6 %) *	2/12 (16.6 %)	3/24 (12.5 %)
CONGESTION	0/11 (0 %)	4/12 (33.3 %)	2/8 (25.0 %)	2/3 (66.6 %)	5/6 (83.3 %) *
SUMA TOTAL	0/99 (0 %)	22/84 (26.2 %) *	17/54 (31.48 %) *	7/25 (28 %) *	12/54 (22.2 %) *

* p < 0.05 vs testigos. Prueba de Chi cuadrado.

GRAFICA IV

PORCIENTO DE ALTERACIONES ENCONTRADAS EN
CORAZON DE RATAS TRATADAS CON PARATION Y
TOXAFENO



*P<0.05 vs testigo

DISCUSION Y ANALISIS DE RESULTADOS.

ANALISIS DE LOS RESULTADOS DE PULMON

Los resultados obtenidos muestran que tanto el paratión como el toxafeno provocan alteraciones patológicas en pulmón y en corazón, tal y como ha sido detectado en otros órganos (13, 22, 32). Después de revisar los cortes y analizar las tablas de resultados correspondientes a la intoxicación subaguda se observa primero lo que puede constituir una reacción inespecífica del organismo frente a la presencia de sustancias extrañas, como se pone de manifiesto al observar en los cortes una cantidad mayor de moco (secreción) en las vías respiratorias y un aumento en el número de células secretoras. Como se menciona en la página 31 "la célula mucosa y serosa son las células secretoras más comunes de las vías aéreas, pero la irritación y los fármacos provocan un aumento en el número de tales células". Lo anterior se corrobora, por el hecho de tener en los testigos conductos bronquiales limpios y en los animales intoxicados conductos con moco en la luz y células caliciformes hiperactivas.

En el caso del paratión puede atribuirse al efecto anticolinesterasa, pues se considera que la activación de los receptores colinérgicos por la acetilcolina se manifiesta en el aparato respiratorio por aumento de la secreción (24).

La respuesta del organismo al efecto del insecticida aumenta conforme transcurren los días de exposición y este es evidente sobre bronquiolos, epitelio alveolar, vasos sanguíneos y ganglios linfáticos. Como se puede apreciar en las gráficas de barras II y III. En la primera el efecto sobre bronquiolos permanece en un mismo nivel, desde el primer día hay una respuesta a la intoxicación y esta se mantiene hasta el último día de tratamiento. En la segunda gráfica el daño en vasos

sanguíneos va en aumento, no se observa en el primer día, se presenta a partir del octavo día y en el décimo es mayor.

La presencia de descamación y congestión además de la secreción en los cortes de pulmón de ratas tratadas 24 hrs. con paratión indican que incluso exposiciones tan cortas de tiempo provocan alteraciones.

Conforme aumentan los días de exposición al insecticida, aparecen más alteraciones como son el edema, la hiperplasia ganglionar y la reacción inflamatoria, además algunas de ellas aumentan en intensidad.

En alveolos se observa edema celular e hipertrofia del epitelio alveolar, ambas localizados en zonas cercanas a la pleura. El edema suele significar pérdida de las reservas intracelulares de energía y aumento de la permeabilidad de las membranas celulares que origina aumento de agua intracelular. La pleura en todos los pulmones se encuentra normal.

En la luz alveolar se observan macrófagos unos con hemosiderina y otros con material fagocitado que se presume es de origen graso. La presencia de macrófagos con citoplasma esponjoso, observada en la fotografía 3, puede atribuirse a "una neumonía lipoidea", que es en esencia una reacción a cuerpo extraño, causada por sustancias oleosas y grasas introducidas a través de la tráquea. Los materiales grasos u oleosos pasan al pulmón debido a una alimentación forzada. Esto pudo suceder al administrar por vía oral los insecticidas ya que el vehículo era aceite de maíz. El dato fundamental es la presencia de macrófagos cargados de aceite o grasa (1). Este hecho puede ser confirmado o descartado por estudios posteriores en que se efectúen cortes por congelación y se apliquen técnicas específicas para la demostración de lípidos como son las de Sudán Negro B o la de rojo oleoso.

La observación de un material pardo en forma de gránulos de tamaño variable, disperso y fagocitado por macrófagos en los pulmones es compatible con hemosiderina, ya que además de este

material había eritrocitos en la luz alveolar y en bronquiolos constituyendo focos de congestión. Esto concuerda con lo establecido por Anderson (1) quien considera que "la hemosiderina puede formarse cuando hay una destrucción excesiva de eritrocitos y que esta se forma a partir de la hemoglobina. En el pulmón suele abundar la hemosiderina en los macrófagos alveolares cuando existe congestión crónica o también cuando hay hemorragias pulmonares repetidas". Esta sustancia puede ponerse de manifiesto al aplicar la técnica de Perls para demostración de fierro por lo que se sugiere sea efectuada en estudios posteriores.

Ya para el décimo día de intoxicación el edema y la hipertrofia no solamente se encuentran en alveolos sino ahora también en la capa media de los vasos sanguíneos. La hiperplasia ganglionar es más severa e invade el epitelio bronquial.

El análisis estadístico de los resultados de la administración de la dosis subaguda de paratión muestra que después de 10 días de administrar el insecticida el efecto causado en bronquiolos, alveolos y nodulos linfáticos es estadísticamente significativo.

Para las ratas tratadas con la LD_{50} de paratión se presentan básicamente tres alteraciones: aumento de la secreción, edema y congestión. Tal y como ha sido visto por otros autores (24). Sin embargo en este estudio el daño causado por este insecticida en el parénquima pulmonar no es estadísticamente significativo (tabla 19).

La administración de toxafeno provoca alteraciones similares a las observadas en las ratas intoxicadas con paratión. En el primer día se ve secreción y congestión además de observar en los pulmones de solo una de las ratas un poco de hiperplasia ganglionar.

Para el octavo día se encuentra mayor daño, con respecto al primer día, pues además de las alteraciones anteriores se ve

edema de células alveolares, parénquima irregular, hipertrofia de la media de los vasos sanguíneos con reacción inflamatoria perivascular e hiperplasia ganglionar.

Ya que el toxafeno está considerado como inhibidor del citocromo c en la cadena respiratoria, se podría sugerir que el edema encontrado en las células alveolares se debe a este factor.

Para el décimo día los bronquiolos se encuentran con poca secreción y la congestión no es general.

En algunos vasos sanguíneos se observa en la capa media edema e hipertrofia y en otros hialinización. Estos cambios son atribuibles a la falta de energía ocasionada por la presencia del toxafeno, el cual interfiere con algunas enzimas de la cadena respiratoria que permiten la utilización del ATP necesario durante la contracción de las fibras musculares del vaso sanguíneo.

Otra de las alteraciones encontradas en forma general es la hiperplasia ganglionar que aumenta con los días de exposición. Esta y el daño vascular observado en las ratas intoxicadas con toxafeno pueden deberse a que los insecticidas organoclorados se acumulan en tejido graso y permanecen mayor tiempo en el organismo que los organosforados, los cuales se eliminan rápidamente y en su totalidad en las primeras 24 hrs posteriores a su administración (9, 20). Esto podría explicar también el que el toxafeno al no eliminarse ocasiona mayor daño a diferencia del paration, ya que el toxafeno, después de diez días de intoxicación, daña significativamente el parénquima pulmonar (tabla 19).

Por otra parte, la reacción inflamatoria alrededor de los vasos sanguíneos podría atribuirse a la edad del animal utilizado ya que se sabe que en ratas viejas es común encontrar agregados de linfocitos focales y multifocales perivasculares y que raramente estos agregados se encuentran cerca de bronquios o bronquiolos. Si bien esto podría ser cierto para alguna de las ratas no lo sería para otras en las cuales sí se encuentran

celulas inflamatorias alrededor de los bronquios.

En los cortes cercanos a la pleura los espacios alveolares estan reducidos, debido a la hipertrofia alveolar lo que provoca encontrar zonas aledañas de espacios alveolares normales y junto a éstas zonas con espacios aéreos reducidos (parénquima irregular).

En el caso de las ratas tratadas con la LD₅₀ se corrobora que "el envenenamiento por toxafeno ocasiona congestión pulmonar y se puede presentar algo de edema" (14). Estas son dos de las tres alteraciones encontradas, la tercera es el aumento en la secreción (células caliciformes hiperactivas). Estas alteraciones también se presentaron en las ratas intoxicadas con paratión. Sin embargo, en las ratas intoxicadas con toxafeno el edema es escaso y se localiza cercano a la pleura.

Se revisaron ambos pulmones, con la finalidad de ver si existe mayor daño en alguno de los dos. Sin embargo en este estudio no se encontraron diferencias apreciables.

Los resultados obtenidos, aún cuando son solamente cualitativos, muestran aparentemente que el efecto de la intoxicación con toxafeno es más marcado. Desde el primer día el toxafeno causa congestión e hiperplasia ganglionar, la cual no es aún manifiesta en las ratas tratadas con paratión. En la grafica de barras I se ve que al termino de los diez días de intoxicación es mayor el daño causado por el toxafeno. Sin embargo al analizar estadísticamente el efecto causado por toxafeno y compararlo con el daño causado por paratión se encuentra que no existen diferencia significativa entre los dos.

Aun cuando 10 días de intoxicación no constituyen una intoxicación crónica fueron suficientes para observar daño histológico. Sin embargo sería interesante saber qué sucede, en una intoxicación por tiempos aun más prolongados, con las células caliciformes, con la hiperplasia ganglionar, con el edema y con la hipertrofia de la media de los vasos sanguíneos.

Por otra parte, al analizar el daño causado por la administración de la dosis aguda de toxafeno, se encuentra que si es significativo no así el daño causado por el paratión, aun cuando este último es más tóxico, sin embargo puede deberse a que el paratión se elimina más rápidamente.

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE CORAZÓN.

Las alteraciones encontradas en corazón son muy semejantes para todos los días y a diferencia de los pulmones no van en aumento conforme a los días de exposición. El daño se manifiesta desde el primer día, en los dos grupos de ratas, al observar fibras con edema, vacuolización y hialinización así como algunas zonas de necrosis con alteraciones nucleares como picnosis, cariólisis y cariórrexis. Un hallazgo constante para todos los cortes es la congestión.

Las explicaciones para algunas de las alteraciones encontradas en los pulmones pueden ser utilizadas en el caso de los cambios observados en el corazón tal y como ocurre con el edema. De tal forma que si se afecta la respiración oxidativa hay disminución de ATP y se provoca que la bomba de sodio falle produciendo acumulación del catión y por lo tanto de agua. Estos efectos pueden atribuirse a la propiedad que tiene el toxafeno de interferir en la cadena respiratoria.

Como se sabe, la cadena respiratoria en tejidos aeróbicos es fundamental para la generación de energía necesaria para llevar a cabo los procesos vitales que mantienen la vida y precisamente la fibra muscular cardíaca por su actividad, posee una gran cantidad de mitocondrias, sitio en el que actúa el insecticida inhibiendo la cadena respiratoria y ocasionando desequilibrio electrolítico interno de la célula.

En el corazón se observa además degeneración vacuolar la cual es una forma grave de tumefacción celular y representa, la acumulación de agua dentro de las células suficiente para producir vacuolas claras cuando se observa con el microscopio de luz.

Dado que el paratión tiene un efecto anticolinesterasa y que la estimulación parasimpática que libera acetilcolina a nivel de las terminaciones parasimpáticas, disminuye la frecuencia cardíaca (15), podría sugerirse que los cambios observados se

deben a este efecto del paratión; sin embargo esto es poco probable ya que para que esto suceda debería presentarse paro cardíaco prolongado y dado que en el corazón existe el sistema adrenergico que actua como compensador aumentando la frecuencia cardíaca; es probable que las alteraciones encontradas tengan que ver más con inhibición de algún sistema enzimático interno de la célula cardíaca que con el efecto anticolinesterasa provocado por el paratión.

Al parecer el corazón es más sensible al efecto de los insecticidas que el pulmón pues en algunas fibras se observa daño irreversible desde el primer día de intoxicación y en el tratamiento prolongado incluso necrosis, cariólisis, cariórrexis y picnosis, a diferencia de las alteraciones pulmonares que pueden considerarse dentro del grupo de lesiones clasificadas como reversibles (edema y hialinización).

El hecho de que los insecticidas organofosforados se eliminan rapidamente podría explicar porque con el paratión hay un menor porcentaje de fibras dañadas (11.6 %) que con el toxafeno (45.8%), después de la administración de la dosis subaguda (Tabla 20).

Y por el contrario, de la misma tabla, se ve que con la dosis aguda de paratión hay un porcentaje mayor de fibras cardíacas dañadas que con el toxafeno, lo cual podría corroborar el hecho de que los organofosforados causan mayor daño en dosis agudas.

Por último, al analizar estadísticamente los resultados de la intoxicación con las dosis subaguda y aguda de toxafeno y paratión, resulta ser significativo el efecto que causan en corazón. (Grafica IV)

Considero que podrían relacionarse los daños histológicos con pruebas bioquímicas u otros parametros y hacer una correlación de estos, en trabajos posteriores, y así darle mayor respaldo al estudio del efecto de los insecticidas.

CONCLUSIONES.

1.- La administración de toxafeno y paratión provoca alteraciones tanto en el parénquima pulmonar como en el cardíaco.

2.- La intoxicación aguda con ambos insecticidas ocasionó aumento de la secreción, congestión y edema alveolar.

3.- Los resultados de la intoxicación subaguda muestran que no existe diferencia significativa entre el daño causado con la administración del toxafeno y el ocasionado con paratión.

4.- Se vieron afectados igualmente ambos pulmones.

5.- El daño en el parénquima pulmonar fue permanente durante el tiempo de intoxicación.

6.- Las alteraciones vistas en las ratas tratadas con paratión pueden deberse a la inhibición de la acetilcolinesterasa, como se pone de manifiesto por el aumento de la secreción y el edema pulmonar.

7.- Las alteraciones sobre el equilibrio electrolítico interno de la célula como el edema podrían ser causadas por el toxafeno al inhibir cadena respiratoria y disminuir las reservas de energía.

RESUMEN

El toxafeno y el paratión son insecticidas ampliamente utilizados en la agricultura. Se ha visto que en mamíferos ocasionan daño en diferentes órganos como riñon e hígado, por lo que se considero de interes investigar si la exposición aguda o subaguda a estos insecticidas modifica la histología de pulmón y corazón.

Se utilizaron órganos de ratas hembras wistar, a las cuales se les habia administrado por vía oral 4 mg/kg la dosis aguda del insecticida paratión y 120 mg/kg del insecticida toxafeno. Para el estudio del efecto subagudo se utilizaron las dosis de 1 mg/kg de paratión y 18 mg/kg de toxafeno durante 1, 8 y 10 dias. Al grupo control se le administró unicamente el vehículo.

Se procesaron los órganos por la técnica de inclusión en parafina y se utilizo la técnica de coloración hematoxilina-eosina.

Los resultados obtenidos sugieren que ambos insecticidas modifican la histología de los pulmones y el corazón tanto en la intoxicación subaguda como durante la administración de la dosis aguda. Es significativa la modificación histologica que ocasionan en las diferentes regiones de los órganos revisados.

APENDICE I

Técnica para desparafinar (19).

- 1) Xilol tres veces
- 2) Alcohol absoluto-xilol tres veces
- 3) Alcohol del 96 % tres veces
- 4) Alcohol del 70 % dos veces
- 5) Agua de la llave

Técnica de coloración hematoxilina-eosina (19).

- 1) Desparafinación e hidratación de los cortes hasta tenerlos en agua corriente.
- 2) Coloración nuclear con hematoxilina de Harris 7-10 min.
- 3) Lavar con agua corriente.
- 4) Diferenciación en alcohol-ácido.
- 5) Lavado con agua destilada.
- 6) Vire de pH con agua amoniacal.
- 7) Lavado con agua destilada.
- 8) Coloración con eosina.
- 9) Lavar y deshidratar los cortes con alcohol etílico al 96 %.
- 10) Transparentación con alcohol absoluto, alcohol absoluto-xilol, xilol.
- 11) Montar en resina sintética.
- 12) Observación microscópica

Resultados

Estructura	Coloración
núcleos	azul o morado
células acidófilas	rosa
células basófilas	morado
eritrocitos	rojo o naranja

APENDICE II

PREPARACION DE REACTIVOS

Hematoxilina de Harris (19).

Cristales de hematoxilina	5.0 g
Alcohol etílico absoluto	50.0 ml
Alumbre de amonio o potasio	100.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
Oxido rojo de mercurio	2.5 g

Disolver la hematoxilina en alcohol, el alumbre se disuelve en agua caliente. Se mezclan las dos soluciones y se ponen a ebullición, se calienta menos de un minuto y se agita frecuentemente. Se retira del fuego y se adiciona lentamente el óxido mercúrico. Se vuelve a calentar hasta que la mezcla toma un color rojo púrpura obscuro. Enfriar. Filtrar antes de usarse.

Alcohol-ácido (19).

Alcohol etílico 70 %	100.0 ml
Acido clorhídrico conc.	1.0 ml

Solución de agua amoniacal (19).

Agua corriente	1000.0 ml
Hidróxido de amonio 28 %	2-3 ml

Preparación de la eosina (19).

Eosina	1.0 g
Alcohol etílico 96 %	100.0 ml

BIBLIOGRAFIA

1. Anderson, W. A. & T. M. Scotti. Anatomía Patológica Básica. 9a. ed. The C. Mosby . Londres. p. 38-52, 1980
2. Bloom, W. & D. W. Fawcett. A Text Book of Histology. 10a. ed. W. B. Saunders. Philadelphia . p. 748-764 ,1975
3. Bruin de, A. Biochemical Toxicology of Enviromental Agents Elsevier North-Holland Biochemical Press. Amsterdam p. 171, 303, 527, 1976.
4. Calabrese A.T. Toxicología. Kapelus. Buenos Aires p.224-231. 1972.
5. Calvo, M. A. Estudio del Probable Daño Hepático en Ratas Causado por Paration y Toxafeno. (Tesis) E.N.C.B. I.P.N. México 1985
6. Campos, H. R. y J. A. Gracia. " Toxafeno ", Producción, Toxicidad, Usos. (Tesis) U.N.A.M. México 1979
7. Cendrero, C. O. Nociones de Anatomía, Fisiología e Higiene. 15a. ed. López. Argentina p. 120,131, 1962
8. Dahn, A. P. Biochemical Toxicology of Insecticides. O'Brien. R. A. & Izuru Academic Press. New York p. 51-73, 1970
9. De Santiago, C. E. Recopilación y Estudio Qímico, Toxicológico de los Insecticidas. (Tesis) U.N.A.M. México 1979
10. Drill, V. A. Farmacología Médica. Prensa Médica Mexicana.

- México p. 565-569 , 1971
11. Frejaville, J. P. et. al. Toxicología Clínica. JIMS, Barcelona p.416-427, 1979
 12. García N. M. Alteraciones Enzimáticas en la Membrana Plasmática de los Hepatocitos de Ratas como Consecuencia de la Intoxicación con DDT y Toxafeno. (tesis) Centro de Inv. de Est. Avanz. del I.P.N. México 1983.
 13. García, V. A. Estudio Histológico del Efecto Nefrotóxico Producido por Dos Insecticidas: paratión y toxafeno. (Tesis) E.N.C.B. I.P.N. México 1985
 14. Guyer, G. E. et.al. Toxaphene Status Report. Special Report to Hazardous Materials Advisory Committee, U. S. Environmental Protection Agency. 1971
 15. Guyton, A. Tratado de Fisiología Médica. 3a. ed. Interamericana. México. p. 276-283, 1967.
 16. Ham, W. A. Tratado de Histología. 7a. ed. Interamericana. México. p. 511-545, 1975
 17. Kalifa, S. et.al. Isolation of 2,2,5-endo, 6-exo, 8,9,10-heptachloro bornane and an octachloro toxicant from technical toxaphene. J. Agr. Food. Chem. 22: 653, 1974
 18. Kinoshita, F. K. Quantitative Measurement of Induction of Hepatic Microsomal Enzymes by Various Dietary Levels of DDT & Toxaphene in Rats. Toxicol. Applied. Pharmacol. 9: 505, 1966
 19. Luna, Lee G. H. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3a. ed. Mc Graw Hill

- New York. p. 12-14, 1968
20. Matsumura, F. Biodegradation of Pesticides by Animals. Plenum Press. New York. p.3-10, 98-100, 1982
 21. Matsumura, F. Toxicology of Insecticides. Plenum Press. New York. p.113-152, 166-169, 217-220. 1975.
 22. Melendez E. et. al. Efecto del Paratión sobre la Función Renal en la Rata. Acta Mexicana de Ciencia y Tecnología. 18: 7-16, 1987.
 23. Mendoza R. M. Valoración de la Respuesta Inmune por Medio de la Cuantificación de Poblaciones Linfoides de Complejos Inmunes en Ratas Intoxicadas con DDT y toxafeno. (tesis) E.N.E.P. Zaragoza U.N.A.M. 1984.
 24. Moreno, A. S. Estudio del Efecto Tóxico del Paratión y del Toxafeno sobre el Cerebro. (Tesis) E.N.C.B. I.P.N. México 1985.
 25. Netter, H. F. Sistema Respiratorio. Colección Ciba de Ilustraciones Médicas. Tomo VII p.25-30, 60- 68, 1979.
 26. Pardine, R. S. et.al. The effect of some Cyclodiene Pesticides, Benzenehexachloride and Toxaphene on Mitochondrial Electron Transport. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 6: 436, 1971
 27. Pollock, G. R. Toxaphene Residue. Review. 69: 87-140, 1978
 28. Poore, R. E. Evidence of Extra Hepatic Metabolism of Parathion. Toxicol. Appl. Pharmacol. 23: 759-768, 1972
 29. Restrepo I. Naturaleza Muerta, Los Plaguicidas en México.

- Andromeda. México. p. 19, 43, 133, 173. 1988.
30. Reuber D. M. Carcinogenicity of Toxaphene: A review. Toxicol. and Environ. Health. 5: 729-748. 1979.
31. Reyes G. M. A. Valoración de Algunos Aspectos de la Respuesta Inmune midiendo la Actividad Fagocítica y la Capacidad de Sintetizar Anticuerpos, así como la Determinación de Biometría Hemática en Ratas Intoxicadas con DDT y Toxafeno. (tesis) E.N.E.P. Zaragoza U.N.A.M. México 1984.
32. Robins, L. S. Patología Básica. 2a. ed. Nueva Editorial Interamericana. México. , p. 323, 1981
33. Sandritter, W. & C. Thomas. Color Atlas & Textbook of Histopathology. 6a. ed. Year Book Medical Publisher. Chicago. p. 34, 41, 81, 86, 1979
34. Sax, N. I. Dangerous Properties of Industrial Materials. 5a. ed. Van Nostrand Reinhold. London. p. 886, 873, 1979
35. Welch, R. M. et.al. Effect of Halogenated Hydrocarbon Insecticide on the Metabolism and Utero Tropic Action of Estrogen in Rats and Mice. Toxicol. Applied. Pharmacol. 19: 234, 1971