



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DE LA RADIACIÓN IONIZANTE (RAYOS GAMMA) EN LOS  
ÓRGANOS LINFOIDES, HÍGADO Y PLACAS DE PEYER**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

**RUIZ MUÑOZ, FAUSTINO**

ASESOR: HERNÁNDEZ VILLAGRAN, RAFAEL J.

MÉXICO, DISTRITO FEDERAL

1991



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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.

EFFECTO DE LA RADIACION IONIZANTE (RAYOS GAMMA)  
EN LOS ORGANOS LINFOIDES, HIGADO Y PLACAS DE  
PEYER.

ALUMNO: FAUSTINO RUIZ MUÑOZ  
ASESORES: M.V.Z. RAFAEL HERNANDEZ  
M.V.Z. CIRO LOMELI

México, D.F. a 7 de junio de 1991.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	6
MATERIALES Y METODOS.....	19
RESULTADOS.....	25
INDICE DE CUADROS Y GRAFICAS.....	26
DISCUSION.....	27
CONCLUSIONES.....	28
LITERATURA CITADA.....	29

## RESUMEN

RUIZ MUÑOZ FAUSTINO. Efecto de la radiación ionizante (rayos gamma) en los órganos Linfoideos, Hígado y Placas de Peyer. (bajo la dirección de: M. V. Z. Rafael Hernandez y M. V. Z. Ciro lomeli. Se administro 1000 rads de irradiación gamma en una dosis unica a un grupo de 30 ratones. 15 machos u 15 hembras con el propósito de observar cambios histológicos producidos por este tipo de radiación en: Timo, Bazo, Ganglio Linfatico, Hígado y Placa de Peyer. Se utilizaron animales convencionales con un estatus microbiológico, de 8 semanas de edad, endogámicos cepa BALB/B en la experimentación, todos los animales se mantienen bajo las mismas condiciones ambientales y de nutrición.

Utilizamos 24 animales (12 machos y 12 hembras) que fueron expuestos a la radiación, mientras que 6 animales no recibieron tratamiento (3 machos y 3 hembras) que fueron sacrificados previo inicio del tratamiento y una pareja al final del experimento.

Los animales fueron sacrificados en un grupo de 3 parejas los días: 3, 6, 12, 18, días postratamiento.

Los resultados observados fueron.

Clinicamente sus condiciones físicas decayeron paulativamente observando, pelo hirsuto, deshidratación y lo más evidente su baja de peso, y muerte de una pareja de animales de 17 días postratamiento.

Histologicamente se encontro fibrosis, picnosis, focos de necrosis y disminución de la cantidad de linfocitos. Estos resultados muestran que a una dosis unica de 1000 rads es suficiente para cambios en la estructura de los órganos linfáticos como el Bazo, pero no para producir muerte inmediata a pocos días después del tratamiento, en esta cepa de ratones. Estos cambios muestran una disminución en el tamaño de los nodulos linfoideos, lo cual sugiere una disminución en el número de linfocitos producidos en los organos linfoideos así como en otros órganos hematópoieticos. Por lo cual es posible utilizar este nivel de radiación como apropiado para producir inmunosupresión.

## EFFECTO DE LA RADIACIÓN IONIZANTE (RAYOS GAMMA) EN LOS ORGANOS LINFOIDES, HIGADO Y PLACAS DE PEYER.

### INTRODUCCION

1.1 El ratón de laboratorio (*Mus musculus*) pertenece al orden - rodenta y a la familia muridae. Su antepasado es el ratón domestico.

Durante el siglo XIX el ratón paso a ser un instrumento de laboratorio, después de muchos esfuerzos encaminados a su crianza el ratón albino suizo es el antepasado de la mayoría de los actuales ratones blancos de laboratorio. Sus ventajas como animal de laboratorio son bastantes por su diminuto tamaño requiere - de poco espacio y equipo. Esta especie es prolifera (con intervalo de generación muy corta) . Hay gran bariedad de cepas disponibles. Sus desventajas consisten en que por su tamaño no es posible coleccionar a partir de el grandes cantidades de material para la investigación y además filogeneticamente esta más distante de los primates. Especialmente del hombre, por lo que es - inportante considerar los datos obtenidos en esta especie. Basu rto, Davila, Navarro, Ocampo, Paez. (1989).

Uno de los canpos donde ha sido utilizado el ratón es en la medición de los efectos de la radiación, asi como la utilización de esta para producir ratones, con aplasia de medula osea como modelo para otro tipo de investigación como son cancer y transplantes. Tizard (1985).

1.2 Consideraciones sobre la radiación y su efectos.

Se entiende por radiación a los fotones y particulas cargadas - y no cargadas de energía, capaces de producir ionización.

Los rayos gamma y X son los más energéticos, rompen en lugar de formar enlaces cobalentes. Pueden producir mutaciones, si las bases eliminadas ó donadas de los ácidos nucleicos no so reemplazadas antes de la duplicación del DNA. También puede haber perdida o traslocación de segmentos cromósomicos, cuando la radiación ionizante esciende las 2 tiras del DNA. Los reordenamientos cromósomicos y especificos son característicos de leucemias y linfomas, y pueden ser los mecanismos por el cual la radiación induce estas enfermedades.

Una radiación suficientemente alta puede causar destrucción ó -

afectar el funcionamiento de un tejido u órgano, estos pueden variar de tejido a tejido. Dosis de 1000 rads, han mostrado producir daño en los órganos linfoides: Bazo, Timo, Ganglio Linfático, Hígado Pacas de Peyer. Mostrando rigidez e inactivación celular. La fagocitosis del desperdicio celular ocurre rápidamente y la duplicación celular ocurre en pocas horas. La regeneración celular dura de 7 a 10 días.

El efecto de la ionización consiste en la activación de un electrón o electrones a partir de átomos o moléculas, por este mecanismo el cual requiere de energía. Una fracción insignificante es disparada como una energía liberada al orbital de electrones del átomo del material absorbente. Estos 2 fenómenos, excitación y ionización, pueden dar como resultado la ruptura o alteración de los enlaces químicos en materiales con consecuencias biológicas. También se pueden formar radicales libres que pueden reaccionar con moléculas de importancia biológica.

Aunado a la primera ionización producida por los fotones o partículas con carga, las ionizaciones secundarias son producidas por la liberación de electrones cuando ellos tienen suficiente energía eléctrica. Las partículas producen ionización indirectamente como un resultado de interacciones con núcleos atómicos. Kelloror (1979). Determina que la forma de medir los efectos es en términos de energía mecánica, un rad es igual a la cantidad de radiación que resulta de la absorción de 100 grs de energía 0 gramo de material irradiado.

Por lo tanto es importante conocer los efectos y la dosis en el animal u órgano de interés.

La única ventaja de la radiación liberada (dada) de una fuente externa a agentes químicos, es que la dosis absorbida por el blanco puede ser estimulada y duplicada con un alto grado de seguridad. Storer, Fry and Ullrich. (1982).

### 1.3 Características histológicas de los órganos Linfoides, Hígado y Placas de PEYER.

#### 1.3.1. Timo.

El timo es un órgano linfático cuya parte principal se encuentra en el tórax, por debajo de la parte superior del esternón. Su base se encuentra hacia abajo y no es tan ancha como largos son sus lados, su ápice se extiende hacia el cuello y la punta hacia la

cabeza. En la mayoría de las especies esta constituida por dos partes, una a cada lado, que no están fundidas entre sí.

Funciones. El timo elabora una secreción interna, esencial para que funcionen con normalidad otros órganos linfoides. Elabora una clase especial de linfocitos que es diseminada por el cuerpo y es vital para las reacciones inmunológicas (linfocitos T), órgano clave en los mecanismos de defensa.

Histológicamente está cubierto de una capa de tejido conjuntivo denso irregular, que emite trabéculas hacia el interior del órgano dividiéndolo en nódulos. La parte periférica de cada lobulillo, muy infiltrada con linfocitos, se denomina corteza, en la zona más oscura y la parte central es más clara y se denomina médula. Tiene unas estructuras centrales que se llaman corpúsculos de Hassall formado por células retículo-epiteliales queratinizadas ó calcificadas que se anastomosan.

### 1.3.2. Ganglios Linfáticos.

Funciones. La mayor parte de la linfa acumulada en los capilares linfáticos del cuerpo antes de volver al sistema circulatorio sanguíneo, por el conducto torácico ó conducto linfático derecho pasa a través de una o más pequeñas estructuras redondas, ovales o reniformes denominados ganglios o nódulos linfoides en donde es filtrada y son producidos diferentes tipos de linfocitos.

Histológicamente están cubiertos por una capsula de tejido conjuntivo denso irregular que emite trabéculas, presenta una zona medular, una zona cortical y un hilio. Entre las trabéculas encontramos los nódulos linfáticos que se presentan en un centro germinativo, es la zona más clara encontrándose linfocitos inmaduros. En el seno medular encontramos los cordones medulares.

### 1.3.3. Bazo.

Es un órgano que tiene forma alargada, se encuentra en el abdomen izquierdo por detrás de los arcos costales noveno, décimo y undécimo, con un eje largo paralelo a los mismos, su color púrpura se debe a su gran contenido de sangre, es de consistencia blanda y friable. Presenta una fisura larga cerca de su borde interno denominado hilio, la arteria esplénica se divide en varias ramas, que se encuentran en la sustancia del bazo -



por separado en distintos puntos a lo largo del hilio.

Funciones. Sirve como sitio en que los antígenos de la sangre pueden activar de manera adecuada los linfocitos programados para que se conviertan en células funcionales inmunológicamente. En muchos animales en la vida posnatal es un órgano hemato-poietico que produce células de la serie linfocítica y de la serie eritrocítica, megacariocitos y plaquetas.

En el bazo abundan los macrófagos y tienen acceso hacia la sangre que circula a través de este órgano. Es también un sitio de almacenamiento de sangre.

Histológicamente presenta un hilio que está intercalado en la circulación sanguínea. Rodeado por una capa de tejido conjuntivo denso irregular muy grueso, penetrando como trabéculas. La parte fundamental está formada por los nódulos linfoides que se denominan pulpa blanca, sitio principal de producción de linfocitos y la pulpa roja que rodea a los nódulos linfáticos

#### 1.3.4. Placas de Peyer.

Además de los órganos linfoides existen acumulo de tejido linfoide en otras partes del organismo, tal es el caso de las placas de Peyer, cuyas características histológicas se describen a continuación.

Tienen forma oval alargada y se hallan en la zona del intestino opuesta a la inserción mesentérica, generalmente hay de 20 a 30 de estas estructuras. Se hallan principalmente en la parte baja del ileón y en la parte del yeyuno, a su nivel puede haber vellosidades.

#### 1.3.5. Hígado

Es el órgano mayor de la economía, se trata de una glándula epitelial con funciones dobles, exocrinas y endocrinas. Tiene color pardo rojizo, se encuentra en la porción derecha del cuerpo con una superficie superior convexa adaptada a la superficie inferior cóncava del diafragma.

Tiene 2 lóbulos principales, el derecho mayor que el izquierdo, está formado por un parénquima y un estroma.

Histológicamente se observan los lóbulos hepáticos, que están formados por cordones hepáticos, sinusoides hepáticos, vena central y porta, las cuales contienen; arteria, vena, conducto biliar y conducto linfático. Ham (1975).

#### 1.4. Factores que modifican el efecto de la radiación.

Al evaluar el experimento debemos tener presente que los efectos de cepa, edad, sexo, o alguna otra variable que puede afectar la respuesta a la radiación.

Sexo, las hembras son más sensibles que los machos, sin embargo algunas veces la diferencia es muy poca y es por el efecto hormonal responsable de la resistencia.

El estado microbiológico; la presencia de bacterias o virus patógenos en la población puede contribuir significativamente a la mortalidad del grupo.

Un factor adicional que determina la dosis a la cual algunos efectos específicos, son observados, es el llamado calidad de la radiación, que es la penetración homogénea de la radiación.

#### 1.5. Hipótesis

Proporcionar una radiación de 1000 rads, por exposición única y total es suficiente en ratones para afectar los tejidos, linfoides, además de hígado, produciendo cambios observables a nivel histológicamente, en toda clase de linfocitos.

#### 1.6. Objetivo

El propósito del presente proyecto es observar los cambios histológicos producidos por la radiación gamma en los órganos linfoides, hígado y placas de Peyer, de un modelo animal de aplasia de médula ósea.

## 2 MATERIAL Y METODOS.

### 2.1.Substancias:Antibioticos.

Anestesia.

SSF.(Solución salina fisiologica).

Fijador.

### 2.2.Material Biológico.

### 2.3.Equipo.

#### 2.3.1.Camara de Irradiación.

#### 2.3.2.Bomba de Cobalto.

#### 2.3.3.Instrumental.

### 3. Metodología.

#### 3.1.Procedimiento de Aclimatación y Acondicionamiento de los Animales.

#### 3.2.Tratamiento Preirradiación

#### 3.3.Metodo de Radiación.

#### 3.4Procedimiento Posirradiación

#### 3.5.Procesamiento de Muestras.

### 4. Resultado.

### 5 Lista de Cuadros y Gráficas.

### 6 Discución

### 7 Conclusiones.

### 8 Literatura Citada.

## 2.1. Substancias

### Antibiotico.

Oxitetraciclina\*en polvo,5 gr/6 ls de agua oral

Pentobarbital sodico\*\*diluido 1:10 con SSF a dosis de

.20 ml/20 gr de peso corporal.Por via intraperitoneal.

Solución salina fisiologica(SSF),que se nos proporsiono en el departamento de Cirugia.

Sustancia fijadora.

Formalina al 10% amortiguada con fosfatos,suficiente para llenar los frascos de recolección,proporcionada en el laboratorio de histología.

1.-\*Terramicina compuesta. De Pfiser.

2.-\*\*Anestesal. De Smith Kline

## 2.2. Material Biológico.

El grupo de animales de laboratorio, consta de un grupo de 30 ratones, 15 machos y 15 hembras.

Cepa BALE/B, de 8 semanas de edad y un peso promedio de machos de 23.7 gr y hembras de 19.6 gr. (cuadros 1 y 2).

Proviene del Instituto de Investigaciones Biológicas, de la Universidad Nacional Autónoma de México. (IIB-UNAM).

La instalación del bioterio, con animales de tipo convencional con un sistema de extracción de aire forzado.

Se alojan en jaulas de policarbonato, tipo caja de zapatos de 364 cm cuadrados de piso.

Protegidos con tapas de barras de acero inoxidable, con filtros de poliestéer Karaft.

Alimentados con un alimento comercial, tipo pelet, hipercaleórico e hiperproteico administrado a libre demanda, el agua acidificada hasta un p.h 2.5 y también administrada a libre demanda, la temperatura ambiental fluctúa entre 18°C-26°C, y el fotoperíodo de luz- oscuridad de 12 por 12 hrs. Son una cepa endogámica (consanguínea) por lo que son genéticamente idénticos.

Presentando como características:

- 1). Mayor de 20 generaciones consecutivas de cruzamiento entre hermanos.
- 2). Isogenisidad.
- 3) Homocigóticos en un 98.4%.
- 4). Estabilidad genética.
- 5). Uniformidad fenotípica.
- 6). Sensibilidad.
- 7). Inmunidad de cepa.
- 8). Identificación.
- 9). Distribución mundial.
- 10). Referidos y catalogados en un índice.

Por sus características del sistema de alojamiento se mantienen en un sistema de barrera de mínima seguridad. El cual consiste en un animal convencional, mantenido en un ambiente especial. La calidad de los animales es uniforme; se verifica clínicamente y microbiológicamente.

El material donde se alojan;caj,tapas de la caja,filtro,botellas de agua y sus tapas,cama y alimento,son esterelizados.

Los animales seleccionados fueron separados aleatoriamente, en 2 grupos: A)Experimental;B)Control.

El grupo experimental esta constituido,por 12 parejas y el grupo control por 3 parejas.

La distribución de los dias de sacrificio posterior al tratamiento se resume en el cuadro 3.

## CUADRO 1

## Hembras

1	19.2gr
2	20.7gr
3	20.5gr
4	19.3gr
5	21.0gr
6	19.2gr
7	19.6
8	20.0gr
9	19.7gr
10	19.5gr
11	19.1gr
12	19.0gr
13	19.0gr
14	20.3gr
15	18.5gr
	<u>294.6gr</u>

$$\bar{X}=19.64$$

## CUADRO 2

## Machos

1	24.5gr
2	25.5gr
3	26.5gr
4	25.0gr
5	26.2gr
6	21.5gr
7	22.7gr
8	23.0gr
9	24.0gr
10	23.7gr
11	22.8gr
12	22.2gr
13	23.0gr
14	22.7gr
15	22.0gr
	<u>355.3</u>

$$\bar{X}=23.68$$

Peso de los animales :hembras,cuadro 1, machos cuadro 2,  
antes de ser tratados

CUADRO 3

GRUPO	DIAS DE SACRIFICIO POSRADIACIÓN				
	0	3	6	12	18
EXPERIMENTAL		6	6	6	8
CONTROL	4				2

Cuadro 3. Numero de animales sacrificados y fecha de sacrificio posterior al tratamiento con rayos gamma.



## 2.3. Equipo

### 2.3.1. Camara de Irradiación

Esta camara consiste en un espacio de forma de sala de laboratorio a la que se tiene acceso por medio de una entrada tipo laberinto, cerrada en el extremo anterior por una puerta. Sus paredes de esta sala estan construidos de suelo de hormigon o de cualquier otro material denso de un grosor tal que una fuente radioactiva de 10,000 curies de cobalto 60 o equivalente pueda colocarse en su interior sin que la intensidad de radiación medida en las superficies exteriores de las paredes se escapen.

El área de trabajo libre en el interior de la habitación mide 5 por 5m, sin tomar en cuenta las paredes de laberinto y la entrada.

La entrada tipo laberinto debe construirse de modo que no se pueda recibir radiación difusa alguna en la puerta de entrada.

Con un sistema de control remoto que se incorpora a un panel adicional, en forma de mesa fijado al panel a la sección del muro, detrás del cual se ha de disponer la organización de los conductores motores de la fuente.

Cada fuente se representa con 3 lamparas indicadoras:

- A). Verde. Fuente en posición de almacenaje.
- B). Amarillo. Fuente entre el almacenaje y las posiciones de operación.
- C). Rojo. Fuente en posición de operación. Mohler, Hermann.-

(1970)

### 2.3.2. Bomba de Cobalto.

Es la fuente de radiación, la cual emite rayos gamma.

Administración de la radiación. El método de operar, se instala el equipo en el que se expone un número seleccionado de fuentes. Los tubos guía rígidos o flexibles se colocan en una pantalla con sus extremos cerrados situados en aquellos puntos donde se dese exponer la fuente.

Por medio de acoples electromecánicos incorporados a estas embrasadas, la conexión de un tubo guía seleccionado automáticamente a una fuente para su posible exposición.

La fijación de dicho tubo, no es posible mover dicha fuente de su posición apantallada.

Las luces de la cámara de irradiación se apoyan por medio de la llave control que se usa entonces para cerrar la puerta de entrada al laberinto. Esta acciona un bloqueo eléctrico indicado en el panel de control.

La fuente que se desea exponer se selecciona por medio de conmutadores apropiados. El conmutador de operación principal se coloca en exposición y las fuentes salen entonces hacia los extremos de sus tubos guías respectivos. Una vez en posición al final de un tubo, la fuente acciona un contacto que para su movimiento.

Colocando el conductor de operación principal, en retirada todas las fuentes expuestas cuyos interruptores están colocados en movimiento, se retiran a sus posiciones de almacenaje.

Mientras que cualquier fuente este entre su posición de operación y almacenaje el indicador amarillo será encendido, sonará una señal acústica. Esto da una clara señal de comienzo y el final de una exposición.

### 2.3.3. Instrumental y Equipo de Laboratorio.

Bisturí.	Frasco de 25 ml con tapa de rosca.
Tijeras rectas.	capsula para procesamiento de órganos.
Pinzas de hemostasis rectas.	Microtómo.
Pinzas de disección sin dientes de ratón.	Procesador automatico de tejidos.
Mesa de cirugía.	Portaobjetos, 26x76mm.
Agujas para sujetar.	Cubreobjetos, 40x24mm.
	Microscopio de campo claro con cámara micrografica integrada.

### 3. Metodología.

#### 3.1. El procedimiento de aclimatación y acondicionamiento de los animales.

Los animales son criados y seleccionados en el IIB-UNAM por su estado de salud, peso y edad, se separan por sexo y se les identifica por perforaciones en las orejas.

Posteriormente se colocaron en 4 cajas de policarbonato 10 días antes de la irradiación, para su aclimatación y acondicionamiento.

#### 3.2. Tratamiento Preirradiación.

Para estabilizar el estado microbiológico, de los sujetos en experimentación, que son convencionales por lo tanto con una flora microbiológica desconocida, y esto puede contribuir significativamente en los resultados.

Se administro al grupo de ratones, una semana anterior a la irradiación, antibioticos de amplio espectro.

Se utilizo Oxitetraciclinas, diluidas 5gr en 6 litros de agua administrada en sus bebederos, durante 7 días, a una dosis de 38.6 mg/kg de peso vivo.

#### 3.3. Metodo de Radiación.

Los animales salen del IIB-UNAM, tanto los animales del grupo control, al Instituto Nacional de Cancerología. En este lugar son anesteciados, irradiados e inmediatamente regresan al IIN-UNAM.

Anestesia. Se empleo una anestesia fija, (petobarbital sodico) para disminuir o minimizar el efecto del estres de los animales en experimentación.

Se preparo la anestesia en una dilución 1:10. 1 ml pentobarbital sódico, por 9 ml de SSF. Se calculo con una probeta graduada. Esta dilución se realizo en el laboratorio de Bioquímica de la FMVZ.

La dosis de la dilución 200mcg./20gr. de peso.

0.2 ml/20 gr. de peso.

Se administro con una jeringa de insulina por vía intraperitoneal, previa acepcia de la zona.

Se anestesiarón todos los animales, tanto los del grupo control como los experimentales.

Los animales que se tratarón, se colocaron en una charola anestesiados para poder ser irradiados, divididos en 2 grupos.

Esto se hizo para que no se movieran y la irradiación les penetrara.

### 3.4. Procedimiento Posirradiación.

Una vez irradiados se regresan a su alojamiento en el IIB-UNAM, donde, de acuerdo al calendario de tomas de muestras se van sacrificando. (cuadro 4):

CUADRO 4

Peso de los animales a la toma de órganos.

Número de animal.	Peso a la obtención de órganos. Hembras.	Número de animal.	Peso a la obtención de órganos. Machos.
1	20gr	1	24.2gr
2	21.5gr	2	26.5gr
3	18 gr	3	23.3gr
4	18 gr	4	22.8gr
5	18.1gr	5	26.8gr
6	15.8gr	6	20.6gr
7	18.7gr	7	20.6gr
8	19.1gr	8	21.6gr
9	19 gr	9	21 gr
10	20 gr	10	22 gr
11	18.5gr	11	21.6gr
12	18.2gr	12	20.6gr
13	8	13	8
14	16 gr	14	15.2gr
15	19.7gr	15	23.9gr

### 3.5. Metodo de Sacrificio y Recolección de Órganos

Para poder obtener los órganos se procedio a anestesiarse a los animales con eter, para no causarles dolor, en seguida se sacrifican por el método de desnucación.

Colocamos al animal en una mesa de cirugía en posición dorso-ventral, sujetando las extremidades con agujas.

Insidimos piel, tejido conjuntivo, músculos (oblicuo abdominal externo, oblicuo abdominal interno, transverso del abdomen y peritoneo). La insición se realiza por la línea media.

Obtenemos los órganos con la siguiente secuencia.

A) Bazo.

- B) Placas de Peyer, una porción del yeyuno.
- C) Hígado.
- D) Timo. Para su obtención, rompemos todas las costillas hasta llegar al inicio del torax y por devajo de este encontramos el timo.
- C) Ganglio Linfatico (popitleo). Se corta la piel de la región femoral y por disección roma del biceps femoral y el semitendinoso encontramos al ganglio.
- Los tejidos deven obtenerse con mucho cuidado, una pequeña porción de tejido para preparar los cortes.
- El tejido deve cortarse con bisturí muy afilado. La porción del tejido, que deve ser colocado en el fijador para inactivar las enzimas célulares y ser de unos pocos, mm de espesor

### 3.5. Procesamiento de Muestras.

Una vez mantenidas las muestras en el liquido fijador un - minimo de 24 hrs., se sacan del fijador y se colocan en unas capsulas de procesamiento de órganos, para su lavado aquí identificamos la muestra y se colocan en la caja de lavado hasta que pierden el exeso de liquido fijador, se sacan y se procede a la preparación de cortes por la técnica de parafina.

Consiste en utilizar 2 solventes diferentes para obtener - la infiltración de parafina. Primeramente se suprime el agua en el bloque de tejido sumergiendolo en alcoholes de concentración creciente, hasta que no tenga agua sino alcohol absoluto, esta etapa se llama deshidratación. Luego se pasa a otra etapa denominada aclaramiento. Los agentes de aclaramiento, el xilol soluble en parafina y alcohol. Al salir el alcohol absoluto el bloque se sumerge en xilol hasta que todo el alcohol a sido desplazado por el xilol; luego se coloca parafina fundida caliente y se deja ahí hasta que todo el xilol ha sido substituido por parafina.

Posteriormente los fragmentos de tejido son incluidos en - los moldes, conteniendo parafina liquida, y se deja endurecer la parafina. Una vez frios los bloques se cortan y se ti

ra el exeso de parafina.El bloque incluido en parafina se monta en el microtomo y se cortan en rebanadas,muy delgadas de 5-6 micromicras de grosor.Una vez colocados los tejidos se montan en porta objetos y se tiñen por la coloración de Hematoxilina y Eosina.El portaobjetos con el corte adherido se introduce en xilol para suprimir la parafina,luego con alcohol absoluto para suprimir el xilol,después en alcoholes cada vez menos concentrados y finalmente en agua. Hecho esto se saca y el corte de tejido queda sobre el portaobjetos y podrá teñirse con colorantes en solución acuosa. La técnica de hematoxilina y eosina(H Y E ).utiliza dos tinsiones,primero un color y luego otro color diferente para lograr el contraste,porque un colorante se combina con ciertos componentes célulares y el otro con otros componentes. Estos colorantes son ácidos y básicos.

El primer colorante utilizado para preparar un corte de H y e,es la hematoxilina que actua de colorante básico,es azul y tiñe el nucleo y el tejido conjuntivo.

Enseguida la eosina,que es un colorante ácido y tiñe de rosa a citoplasma,músculo y eritrocitos.

Después procedemos a montar la laminilla,colocando una gota de balzamo de Canada o resina sintetica y procedemos a colocar el cubre objetos,cuidando de que no tenga burbujas de aire.

## RESULTADOS

Los animales experimentales mostraron cambios en su apariencia externa, las cuales fueron; sus condiciones físicas fueron decaendo, presentando pelo hirsuto, deshidratación, disminuye su actividad, conjuntivitis y lo mas evidente su baja de peso.

La perdida de peso de los animales tratados se observa en los cuadros 5 y 6., mientras que los controles no mostraron baja de peso e incluso incremento su peso.

Las observaciones histológicas en los cortes de los diferentes órganos y tejido linfoide fueron.

Bazo: apariencia mas clara de la pulpa blanca, degeneración celular, las travéculas se hacen mas evidentes, en muchas partes ya se encontraban linfocitos, células con picnosis, no hay uniformidad celular, nodulos esplenicos sin linfocitos, sus nodulos son mas pequeños.

Timo se perdieron la mayoría de estos órganos, pero en los que observamos, fueron de los órganos mas afectados. Notamos la falta de gran cantidad de linfocitos, medula con zonas muy claras, picnosis, vacuolización celular

Ganglios Linfáticos. Debido a lo pequeño de la muestra la mayoría de estos se perdieron durante el procesamiento, por lo que no los observamos.

Placas de Peyer. en este órgano encontramos pocos linfocitos, en los nodulos.

Hígado, hepatositos grandes con nucleo hiper cromático y focos de necrosis coagulativa.



## CUADRO 5

	fecha del sacrificio.	peso antes de radiacion.	peso a la obtención de organos.	
1	9-v-91	19.2 gr	20	testigo
2	9-v-91	20.7 gr	21.5	testigo
3	11-v-91	20.5 gr	18	radiado
4	11-v-91	19.3	18	radiado
5	11-v-91	21	18.1	radiado
6	14-v-91	19.2	15.8	radiado
7	14-v-91	19.6	18.7	radiado
8	14-v-91	20	19.1	radiado
9	20-v-91	19.7	19	radiado
10	20-v-91	19.5	20	radiado
11	20-v-91	19.1	18.5	radiado
12	26-v-91	19	18.2	radiado
13	26-v-91	19	murio	radiado
14	26-v-91	20.3	16	radiado
15	26-v-91	18.5	19.7	testigo
		<u>294.6</u>	<u>260.7</u>	
		$\bar{x}=19.64$	$\bar{x}=18.62$	

## HEMBRAS

CUADRO 6

	fecha de sacrificio.	peso antes de radiación.	peso a la obtención de órganos.	
1	9-v-91	24.5	24.2	testigo
2	9-v-91	25.5	26.5	testigo
3	11-v-91	26.5	23.3	radiado
4	11-v-91	25	22.8	radiado
5	11-v-91	26.2	26.8	radiado
6	14-v-91	21.5	20.6	radiado
7	14-v-91	22.7	20.6	radiado
8	14-v-91	23	21.6	radiado
9	20-v-91	24	21	radiado
10	20-v-91	23.7	22	radiado
11	20-v-91	22.8	21.6	radiado
12	26-v-91	22.2	20.6	radiado
13	26-v-91	23	murio	radiado
14	26-v-91	22.7	15.2	radiado
15	26-v-91	22	23.9	testigo
		<u>355.3</u>	<u>310.8</u>	
		$\bar{x}=23.68$	$\bar{x}=22.2$	

MACHOS

CUADRO 7

	peso antes de la radiacion.	peso a la toma de muestras.	peso antes de la radiacion	peso a la toma de muestras
	Hembras		Machos	
1	19.2	20	24.5	24.2 9-v-91
2	20.7	21.5	25.5	26.5 9-v-91
$\bar{x} =$	19.9	20.7	25	25.3 testigo
3	20.5	18	26.5	23.3 11-v-91
4	19.3	18	25	22.8 11-v-91
5	21	18.1	26.2	26.8 11-v-91
$\bar{x} =$	20.2	18.03	25.9	24.3 tratados
6	19.2	15.8	21.5	20.6 14-v-91
7	19.6	18.7	22.5	20.6 14-v-91
8	20	19.1	23	21.6 14-v-91
$\bar{x} =$	19.6	17.8	22.4	20.9 tratado
9	19.7	19	24	21 20-v-91
10	19.5	20	23.7	22 20-v-91
11	19.1	18.5	22.8	21.6 20-v-91
$\bar{x} =$	19.4	19.1	23.5	21.5 tratado
12	19	18.2	22.2	20.7 26-v-91
13	19	8	23	8 26-v-91
14	20.3	16	22.7	15.2 26-v-91
$\bar{x} =$	19.43	17.1	22.63	17.95 tratado
15	18.5	19.7	22	23.9 26-v-91
$\bar{x} =$	18.5	19.7	22	23.9 testigo

GRAFICA 1

I: promedio de peso antes de la radiacion.  
 II: Promedio de peso al tomar las muestras.

Hembras  
 peso en  
 gramos

21

20

19

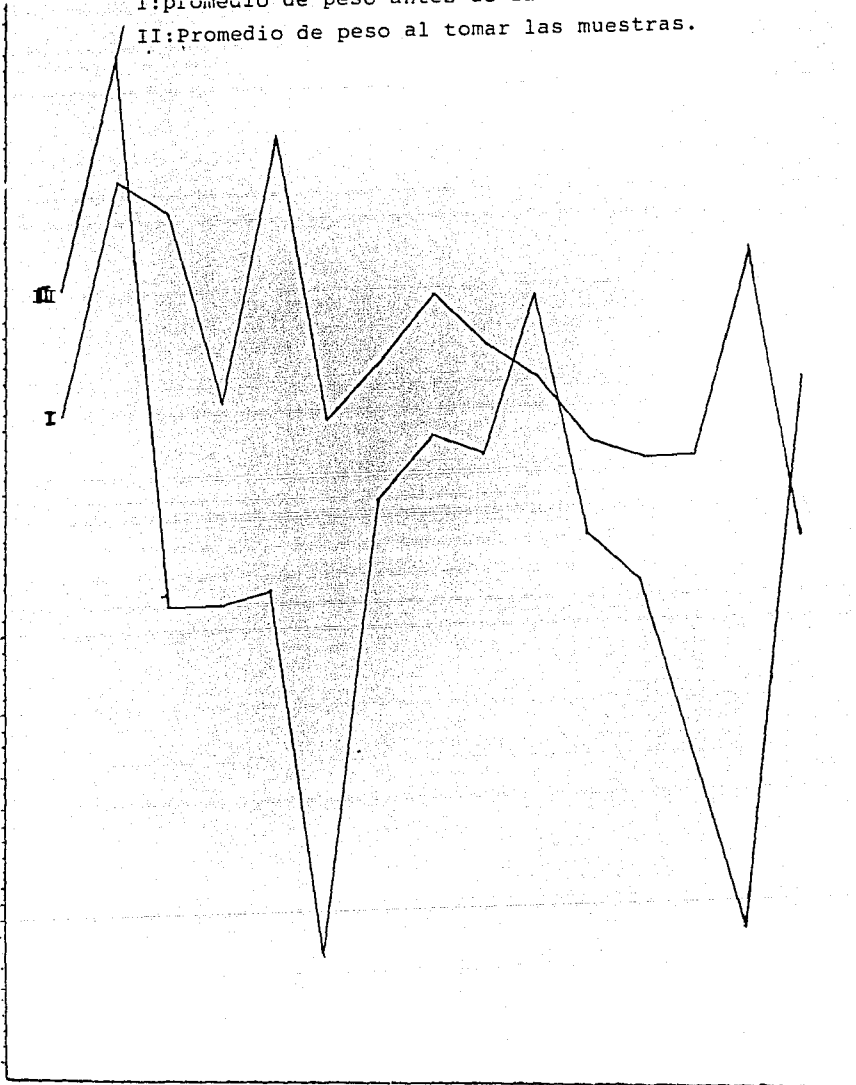
18

17

16

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Dias

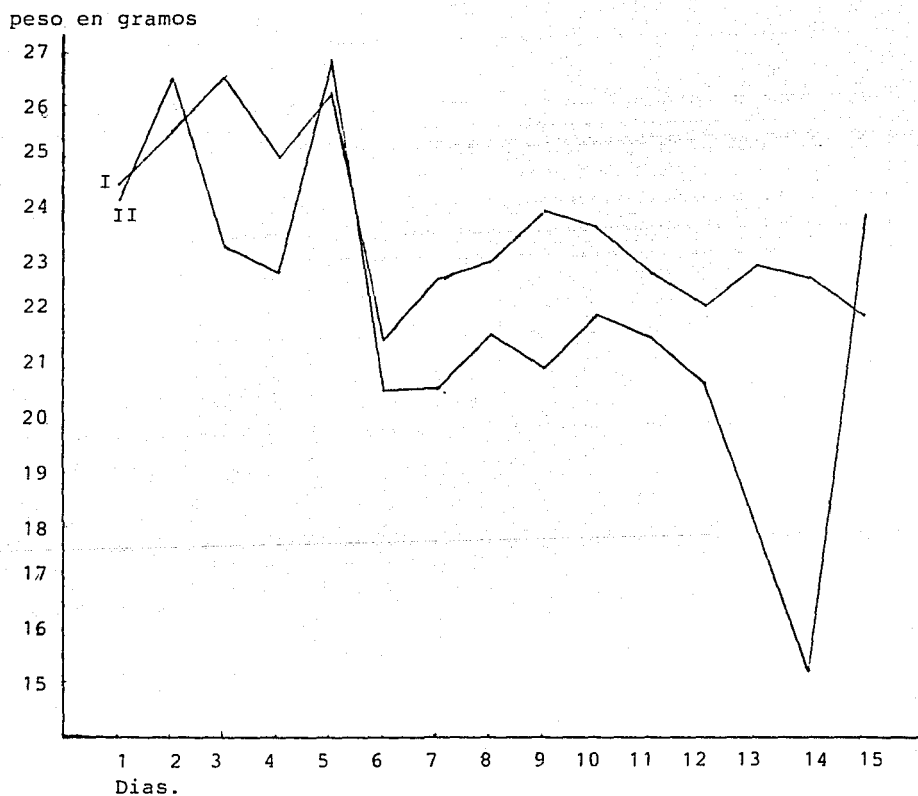


## GRAFICA 2

Machos.

I.-Peso promedio antes de la radiacion.

II.-Peso promedio al tomar las muestras.



## LISTA DE CUADROS Y GRAFICAS

- 1.-Peso de las hembras antes del tratamiento.
- 2.-Peso de los machos antes del tratamiento.
- 3.-Número de animales sacrificados y fecha de sacrificio posterior al tratamiento con rayos gamma.
- 4.-Peso de los animales a la toma de órganos.
- 5.-Peso de las hembras antes de la radiación, fecha de sacrificio y toma de muestras.
- 6.-Peso de los machos antes de la radiación, fecha de sacrificio y toma de muestras.
- 7.-Peso por grupos y su promedio, antes del tratamiento y a la toma de muestras.
- 1.-Grafica del peso de las hembras, antes del tratamiento y a la toma de muestras.
- 2.-Grafica de peso de los machos, antes del tratamiento y a la toma de muestras.

## DISCUSIÓN

La dosis unica total de 1000 rads produjo cambios que afectaran tanto la apariencia externa de los animales como de la estructura histológica de los mismos pero no produjo alta mortalidad al menos durante el periodo de 18 dias que duro el estudio, esto difiere con lo descrito por J.B.STORER, R.L FRY and R.L.ULLRICH. Quien dice que con dosis de 500 a 1000 rads muere por daño a médula y la muerte ocurre de 8 a 10 dias. En el presente estudio - una pareja de las 3 que formaban el grupo de los 18 dias fallecio antes de la fecha, debido al estado de descomposición del cadaver , no se determino la muerte, no pudiendo establecer la causa de la muerte.

Con respecto a la diferencia en la mortalidad con otros autores podemos considerar lo siguiente;

Tipo de animal (microbiologicamente)

Pretatamiento con tetraciclinas.

Cepa.

Edad y peso.

Tipo y calidad de la radiación.

Los cambios histologicos que se observan en el bazo, timo y placas de peyer, muestran en terminos generales disminucion en el numero de linfocitos, más que cambios degenerativos celulares o estructurales en el bazo , timo y placas de peyer son similares . Ham. Si se toman animales y se les aplica radiación corporal total suficiente el contenido de linfocitos del timo, desaparece casi por completo, como los leucocitos que se producen en médula ósea. Ham. (1975).

Hígado. El motivo de que células especializadas no manifiesten obligadamente una lesión por una dosis de radiación se debe:

1. Una célula normal especializada, necesita una pequeña fracción de sus genes para dirigir la síntesis de las proteínas particulares que caracterizan su naturaleza.
2. Si uno o más genes activos son lesionados, puede haber no lesionados, que toman el cargo.
3. Si afectan solo es temporal, si los genes que sintetizan las proteínas frescas son dañados.

## CONCLUSIONES

El objetivo se llevo a cabo, los resultados constataron el experimento en estudio.

Observamos la baja de peso y daños físicos

Encontramos cambios en los órganos en muy poco tiempo, a los 3 días, posirradiación.

A los 18 días posirradiación, se observa mayor severidad en la reducción de linfocitos, en bazo.

Si bien el estudio quedo incompleto, en el estudio detallado de los órganos, por la perdida de muestra en el procesamiento.

Estas observaciones realizadas en el bazo apollan la sugerencia de que con esta dosis de radiación se puede producir disminución de las células de defenza y por lo tanto cierto grado de inmunosupreción.



## LITERATURA CITADA

- 1.-BASURTO C, BARCENAS R, DAVILA P, NAVARRO H, OCAMPO C, PAESE.:  
Prácticas del laboratorio de fisicoquímica. FMVZ. UMAM.  
México, D. F., (1989). pag 18-19.
- 2.-J.B.STORER, R.J.FRY and R.L.UllRICH.:The mouse inbiomedical reseach. Vol IV. Academic Press.(1982). pag 133-146.
- 3.-HAM, A.W.:Tratado de histología.septima edición. Ed Interamericana.(1975). pag 6-10,54,303-305,328-332,474,427.
- 4.-MEYER, J.L.:Farmacología y terapeutica veterinaria.  
Ed Interamericana. (1975). pag 439.
- 5.-MOHLER, HERMAN.:Enciclopedia de tecnologia química.  
Ed Urno. (1970). pag 296-301.
- 6.-ROSCOE, B, JACKSON.:Biology of the laboratory mouse.  
(1966). pag 92-93.
- 7.-SCHUMM, D, E.:Principios de bioquímica. Ed El manual moderno.  
(1985).
- 8.-TIZAR, I.:Inmunología veterinaria. Ed Interamerican. Segunda edición (1985). pag 297.