



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION ESTUDIOS DE POSGRADO

ALTERACIONES ULTRAESTRUCTURALES
DE LA CELULA DE CLARA DE PULMON
DE RATON SECUNDARIAS A LA
INHALACION AGUDA DE PLOMO

T R A B A J O

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALISTA EN MICROSCOPIA
ELECTRONICA APLICADA A LAS
CIENCIAS BIOLOGICAS

P R E S E N T A :

MA. DEL ROCIO SALGADO CUEVAS

DIRECTORA DEL TRABAJO:
M. en C.M. TERESA I. FORTOUL VAN DER GOES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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

ABREVIATURAS	1
RESUMEN	3
INTRODUCCION	5
ANTECEDENTES	10
Generalidades sobre el plomo	14
Fuentes de exposición al plomo	14
Exposición al plomo de la población en general y ocupacional	16
Metabolismo del plomo	19
Sistema nervioso	19
Sistema hematopoyético	19
Aparato urinario	19
Aparato gastrointestinal	21
Sistema reproductor, endócrino y articulaciones	21
Aparato respiratorio	21
Carcinogenicidad	21
Mutagenicidad y Teratogenicidad	22
Monitoreo	22
Aparato respiratorio y Célula de Clara	24
Mecanismos de defensa del pulmón	29
MATERIAL Y METODOS	31
RESULTADOS	39
DISCUSION	51
CONCLUSIONES	54
GLOSARIO	56
REFERENCIAS	59

ABREVIATURAS

Para células

C. Cil = Célula Ciliada
CC = Célula de Clara
CI = Citoplasma
CIL = Cilios
CMV = Cuerpos Multivesiculares
EC = Estructura circular
GRA = Gránulos
GRAP = Gránulos cerca de la periferia celular
GOL = Aparato de Golgi
LC = Límite Celular
LIS = Lisosomas
MIT = Mitocondria
NC = Nucleolo
NU = Núcleo
NUB = Núcleo bilobulado
REL = Retículo Endoplásmico Liso
RER = Retículo Endoplásmico Rugoso
RIB = Ribosomas
VA = Vacuolas
VE = Vesículas

Para varios

EPA = Environmental protection Agency
CD1 = Cepa de ratón
ppm = partes por millón
SEDESOL = Secretaría de Desarrollo Social
Xa = Estación: Xalostoc

RESUMEN

Se elaboró un modelo experimental agudo en el que se sometieron a la inhalación de acetato de plomo ratones CD1 para observar los cambios ultraestructurales presentados en la célula no ciliada (célula de Clara) en bronquiolo terminal.

Después de dos semanas de inhalación los animales se sacrificaron a diferentes tiempos: un día, tres, cinco, siete y diez días. Donde se encontró la mayor evidencia de daño ultraestructural intracelular fue entre el 3° y 7° tiempo después del último día de postinhalación. Los organitos celulares con mayor modificación fueron los gránulos, que disminuyeron en cantidad, el núcleo que se presentó hinchado. Otras modificaciones que se presentaron fueron: lobulación en núcleo, en el citoplasma a los tres y siete días postinhalación se apreciaron, estructuras circulares que tendían a formar cuerpos redondeados concéntricos. Fue notable la presencia de varios cuerpos multivesiculares prácticamente en todos los días de postinhalación.

Los cambios encontrados sugieren que el bronquiolo terminal (bronquiolo no respiratorio), es un sitio que es dañado por la exposición a la inhalación aguda de plomo, además se sugiere que dado los cambios, principalmente a nivel nuclear y al parecer del retículo endoplásmico liso, el plomo inhalado es mucho más tóxico con estos dos organelos que son más susceptibles, que los demás en la célula de Clara. Los cambios generales que presenta la célula en estudio, pueden sugerir alteraciones en las funciones nucleares así como la destoxificación no sólo del metal por parte de la célula en el 10° día postinhalación, sino también de las sustancias que son metabolizadas en el pulmón.

El daño que el plomo causa al pulmón a nivel celular no ha sido muy estudiado, por lo que no se conoce un patrón de investigación a seguir del efecto de este metal en el aparato respiratorio. Se sabe que concentraciones de plomo arriba de 1.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ que es el permisible en el ambiente, son tóxicas para la salud. En la ciudad de México hay reportes de concentraciones de plomo en aire que rebasan hasta tres veces la norma permitida para este metal.

Estudios más detallados y a más largo plazo serán necesarios para identificar las repercusiones de este metal en el adecuado funcionamiento de los mecanismos de defensa del aparato respiratorio y en especial la interacción que el plomo-célula de Clara, célula ciliada, y demás células que integran los pulmones puedan tener.

INTRODUCCION

La mezcla de gases existentes en la atmósfera que forma una capa de varios kilómetros de altura alrededor de la Tierra, está conformado (%) por los siguientes elementos y mezclas(1):

Nitrógeno	78%
Oxígeno	21%
Bióxido de carbono	0.04%
Otros gases	0.6%

Las concentraciones de estas sustancias pueden verse modificadas o incluso cambiar su forma química ($O_2 - O_3$, $CO_2 - CO$) de manera natural, no siendo peligrosas estas debido a que la naturaleza puede depurar el sistema. Pero hay otros compuestos ajenos a los anteriormente mencionados y al ambiente que rebasan los límites tolerables de depuración natural y se concentran en diversos sectores estratégicos de la atmósfera contaminándola, tornándola nociva a variados organismos.

Algunos compuestos y elementos químicos como el bióxido de azufre (SO_2), monóxido de carbono (CO), plomo (Pb), y partículas suspendidas totales (PST), entre otros, son ya parte integral del aire que se respira en la Ciudad de México, siendo su porcentaje, elevado (Tabla 1). Se sabe por estudios previos a este trabajo que algunos de ellos son nocivos para el aparato respiratorio como el plomo que produce alteraciones principalmente en sistema nervioso, hematopoyético, urinario y gastrointestinal entre otros(2).

compuesto	concentración	monitor	limite permisible por la SSA
SO ₂	20 ppm 20 ppm	Merced Tlanepantla	13 ppm
CO	0.298 ppm 0.383 ppm	Pedregal Merced	0.21 ppm
Pb	1.74-3 µg/m ³ 1.74-3 µg/m ³	Xalostoc Tlanepantla Cerro de la Estrella	1.5 µg/m ³
PST	300 µg/m ³ 400 µg/m ³	Cerro de la Estrella Xalostoc	275 µg/m ³

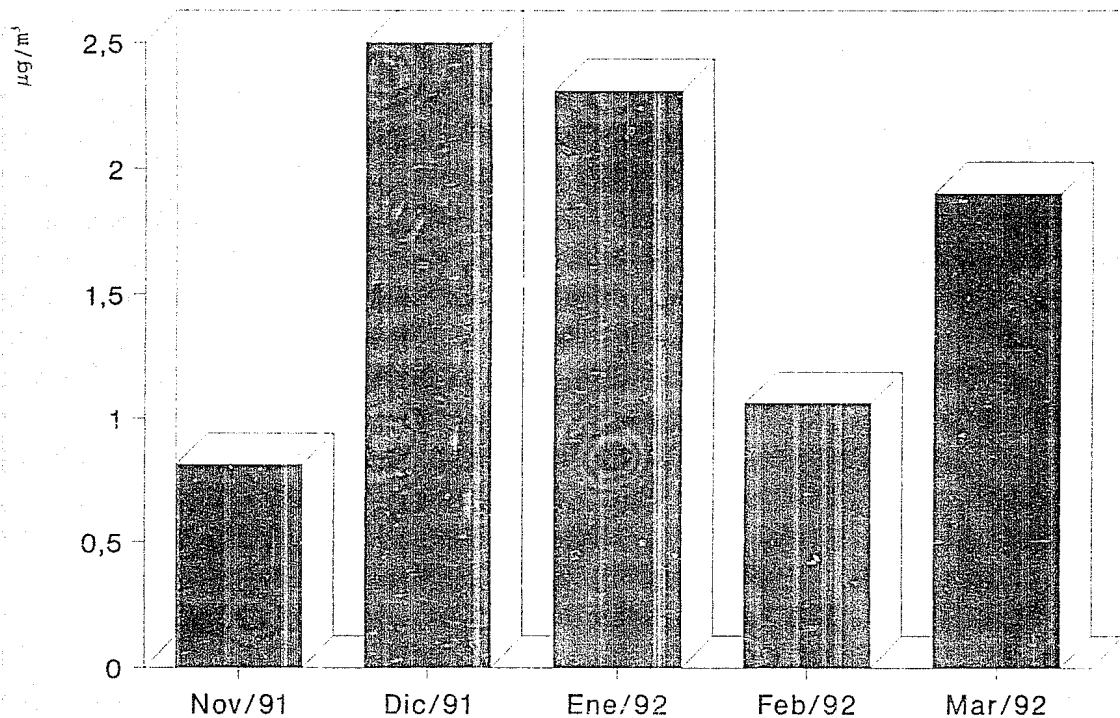
TABLA 1

Algunas concentraciones de contaminantes en el ambiente de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México y área conurbada para el año de 1990(3)

La concentración de plomo en las personas se evalúan directamente en la sangre. En los niños, una concentración de 10 µg/dl puede provocar un detrimento en sus funciones cognitivas (como el aprendizaje). El caso extremo en los niños sería una concentración de 100 µg/dl la cual produciría coma hasta la muerte(3). En mujeres embarazadas puede dar lugar a partos prematuros, incluso inducir aborto o esterilidad(3). Una concentración de 100 µg/dl en adultos causaría alteraciones severas en S. N. C. como irritabilidad, temblor muscular, alucinaciones, pérdida de la memoria y falta de capacidad de concentración(3)

El plomo es un elemento natural de la corteza terrestre; sus concentraciones nativas no son tóxicas para el hombre (no está en contacto con el metal). Debido a la alta actividad antropogénica en muchas ciudades, este metal ha pasado a ser parte importante del ambiente, donde alcanza concentraciones peligrosas para la salud. En México hay reportes de promedios anuales de concentraciones de plomo para la zona metropolitana y área conurbada de aproximadamente 4 µg/m³ en la estación Xalostoc(2), siendo la concentración máxima permitida por la SSA para este metal de 1.5 µg/m³, (Figura 1). Por otro lado, un estudio realizado por el programa de Naciones Unidas para el medio ambiente, en 1982 para identificar valores de metales pesados en sangre en 10 ciudades; se encontró que los niveles más

CONCENTRACION DE PLOMO EN DIFERENTES MESES PARA LOS AÑOS
91-92 DETERMINADO EN LA ESTACION XALOSTOC (ZONA CONURBADA)



Fuente: Red Man. de Mon. Amb. SEDESOL

PROMEDIO [Pb]

FIGURA 1

elevados de Pb en sangre se encontraban en el grupo de individuos estudiados en la ciudad de México(4).

Las principales vías de adquisición de este metal son la inhalatoria y la oral. En cuanto a la vía inhalatoria el plomo entra por nasofaringe- tráquea- bronquios- bronquiolos llegando hasta alveolos. Subcelularmente se sabe que se distribuye en el núcleo, mitocondria y microsomas(5). Cuando el plomo se encuentra en el núcleo, éste interactúa con los ácidos nucleicos (DNA) por la afinidad que tiene el plomo a los grupos -SH. Este metal forma pequeños cuerpos intranucleares densamente teñidos en hepatocitos de rata, que parece ser un complejo Pb-proteína(5).

Finalmente por la vía oral, si bien en general la mayor fuente de plomo es ingerido con los alimentos, alrededor de un 90% de este es eliminado por las heces(6). Las estructuras que por más tiempo lo almacenan son hueso y diente. Con respecto a este último, estudios recientes en Ciudad Nezahualcóyotl en pacientes de cinco a 14 años, se detectaron cantidades elevadas de plomo adheridas al esmalte de los molares y dientes temporales. El análisis de 60 piezas dentarias mostró que dicho metal se ubicaba preferentemente en la superficie del esmalte y no en su interior(7).

En mitocondria al parecer el plomo entra y tiene un proceso activo dependiente de energía, este metal compite con el calcio ya que trabajan los dos con una valencia de 2⁺. Este organelo es sensible al plomo, y la enzima NAD reductasa también lo es(5).

Los mecanismos de defensa del pulmón se ven modificados por algunos factores externos, entre ellos la contaminación por metales pesados como el plomo y cadmio(8). La inhalación es una de las principales vías de ingreso del plomo al organismo al menos en la ciudad de México.

En la literatura no se menciona algún método de estudio del plomo con respecto al aparato respiratorio. Por tal motivo para este estudio se escogió al azar la cepa, sexo y peso de los animales y con ello observar las alteraciones que el plomo inhalado pueda causar a algunas células del pulmón. Por lo tanto en el presente trabajo se estudiaron las alteraciones ultraestructurales en la célula bronquiolar no ciliada (célula de Clara) en el ratón en un modelo agudo, observadas con microscopía electrónica de transmisión.

ANTECEDENTES

Es un hecho que la industrialización y los avances tecnológicos han aportado al hombre grandes beneficios y sobretodo comodidades, pero en las últimas décadas el uso indiscriminado de todos estos avances a causado estragos en su salud.

Los desperdicios provenientes de grandes industrias se han acumulado en la naturaleza de tal forma que han alterado el ritmo de limpieza del sistema; tal es el caso del gran hoyo en la capa de ozono que protege la atmósfera(I), resultado del uso indiscriminado de compuestos que llevan cloro (Cl) como los clorofluorocarbonos (CFC) y bromo (Br)(9), los desechos y derivados del petróleo que se vierten al mar poniendo en peligro la vida y existencia de numerosas especies marinas, los materiales que se tiran y depositan en la tierra y la hacen infértil para su cultivo, y los contaminantes del aire los cuales son absorbidos por plantas, animales y el hombre mismo.

Numerosos elementos traza que se encuentran en concentraciones bajas en la naturaleza son completamente inofensivos para la salud humana; pero la gran actividad industrial ha permitido que todos estos y otros más ocupen altos porcentajes del aire encontrándose algunos de estos elementos en el cuerpo humano (Figura 2). La importancia de estudiar los efectos de estos metales en el organismo es debido a que algunos de ellos provocan patología respiratoria como el Cd(10), o efectos inmunosupresivos y mutagénicos como el Pb(11). Este último es ya parte de nuestra vida diaria, lo encontramos en pinturas (en forma de cromatos de plomo), acumuladores, cigarros (se utiliza el arseniato de plomo como insecticida), cerámica (Albert, L. (4) relacionó directamente el saturnismo con el uso habitual de cerámica tradicional), amalgama de los dientes, baterías, cables, gasolinas entre otros. En la ciudad de México la utilización de gasolina NOVA, provocó la emisión de 32 toneladas de plomo al día en el año de 1981(4). Albert, L. en su artículo "Environmental lead in Mexico", hace referencia a un artículo que publicó El Washington Post sobre la contaminación en nuestra ciudad en el cual se afirmó que la concentración de plomo en la gasolina era "la más alta del mundo"(4). Es uno de los elementos, además del Silice, de más alta concentración en el aire de nuestra Ciudad y ambiente en general (Figura 3).

A continuación se da una descripción más detallada del Pb y sus características, para tener un panorama más amplio del conocimiento de este metal después, se introduce al estudio del aparato respiratorio y la célula de Clara, para retomar por último los efectos del plomo en células no ciliadas del pulmón.

(I) Donde pasan los rayos ultravioleta provenientes del sol sin ser filtrados por la capa de ozono.

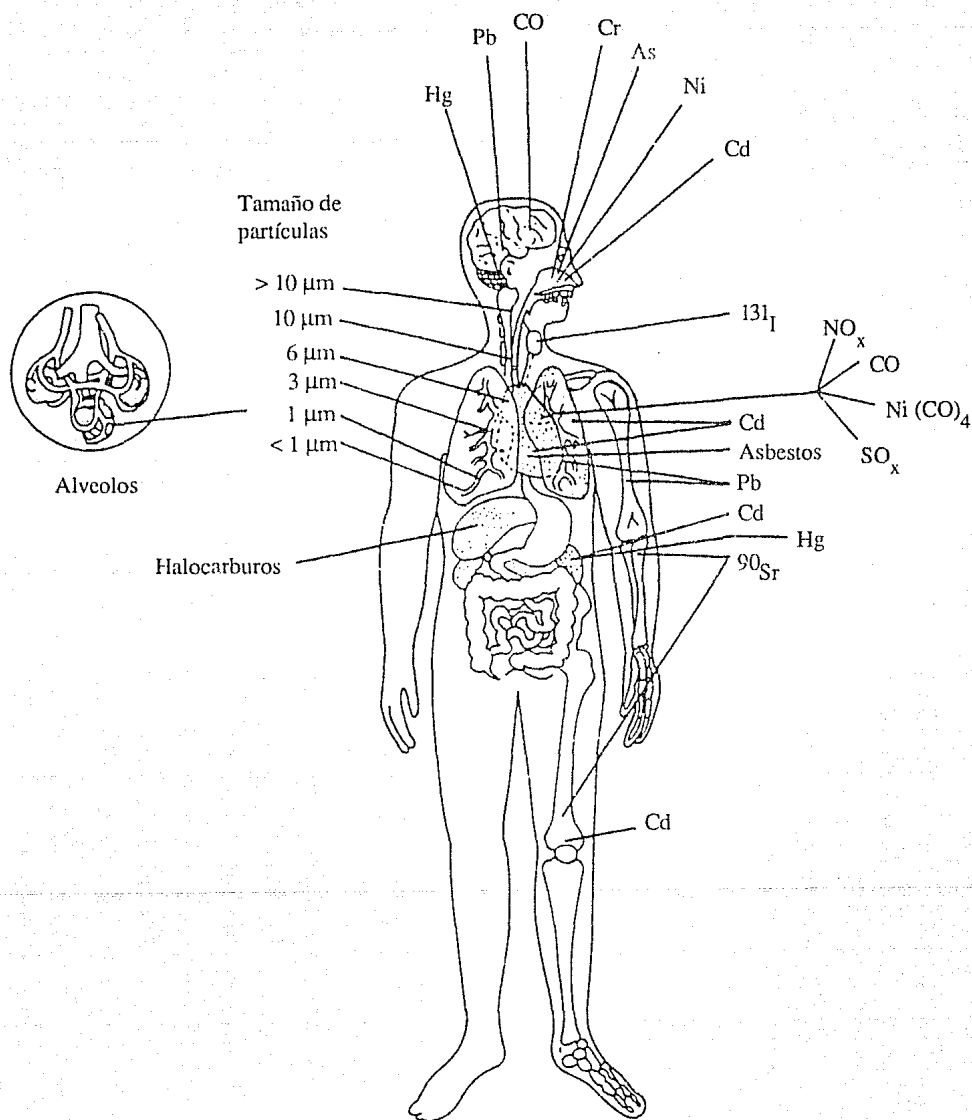


FIGURA 2

Areas y órganos en el cuerpo humano donde se depositan algunos elementos químicos y compuestos, que comúnmente se presentan en el aire. (tomado de Butler, J. D. Air pollution Chemistry)(5).

Promedios anuales 88-91 de plomo
Zona Metropolitana de la Cd. de México
Y AREA CONURBADA

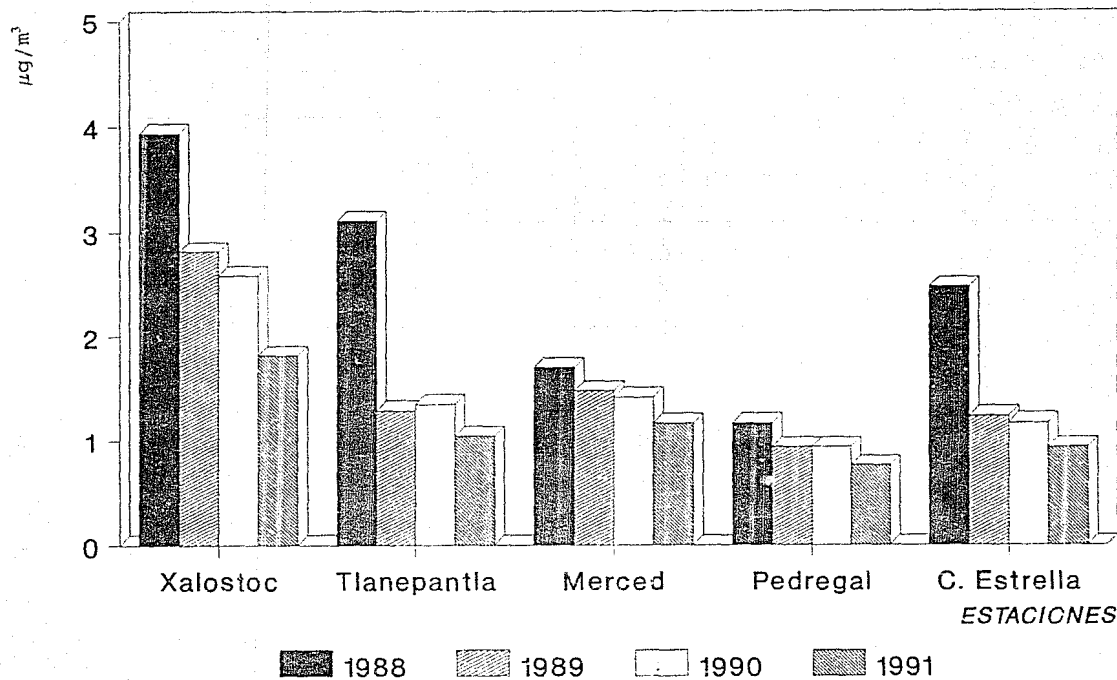


FIGURA 3

Generalidades sobre el plomo

El plomo es un elemento de la familia IV B de la tabla periódica, con un peso molecular de 207.2 grs. Su punto de ebullición es de 1744° C, y el de fusión es de 327.5° C. Tiene valencia de 2⁺ (trabaja principalmente con esta) y de 4⁺. Este elemento se encuentra en forma natural en la corteza terrestre, con una concentración aproximada de 16 mg/kg(6). Fue uno de los primeros metales extraídos por el hombre, a partir de la galena (PbS) cerusita (PbCO₃) y la anglesita (PbSO₄). En el mundo se encuentran diversos yacimientos importantes(6). México es el sexto productor en el mundo de este metal y el tercer exportador después de Australia y Canadá. Nuestro país produce el 40% del plomo mundial. El plomo en su forma natural es irrelevante como fuente de contaminación pero adquiere importancia cuando sus concentraciones se elevan en el ambiente (arriba del límite permisible que es 1.5 µm/m³).

Fuentes de exposición al plomo

Las principales fuentes de exposición al plomo son las aplicaciones industriales(12), dentro de ellas se tiene la alfarería (vidriado), antidetonantes para gasolina, baterías, acumuladores, pigmentos para pinturas, productos de acero, elementos para protección contra radiaciones, tuberías de plomo, imprenta, municiones, coberturas de cable, soldadura de plomo en latas entre otros(6) (Tabla 2).

USO	1981	1986
Oxidos	55.7%	68.9%
Baterías	14.9%	7.0%
Tetraetilos de plomo	8.5%	10.9%
Cables	6.7%	5.7%
Otros	14.7%	7.6%

TABLA 2
Mayores usos de plomo en México(4)

Las causas más importantes de contaminación del aire están dadas por industrias y vehículos motorizados. Las concentraciones de plomo en el aire de algún lugar en particular van a depender tanto del tipo, extensión y distribución de las fuentes emisoras como de las condiciones naturales de dispersión.

En algunos lugares lejanos a las grandes ciudades las concentraciones mínimas de plomo en aire son del orden de 0.1 ng/m^3 , en regiones rurales sube a $0.1 \mu\text{g/m}^3$, en áreas rurales cerca de ciudades está a $0.21 \mu\text{g/m}^3$, en ciudades oscila entre $1-10 \mu\text{g/m}^3$, cuando tienen actividad industrial y vehicular(6), en algunas avenidas de la ciudad de México se observa que no es la excepción (Tabla 3). El aire representa para un habitante urbano en promedio un aporte de 6-9 μg de plomo diario a su organismo ya incorporado(6).

Existe una elevada fuente de emisión de plomo al agua, suelo, alimentos y otros; en agua la exposición al plomo es mínima debido a que forma esencialmente compuestos insolubles del tipo carbonatos o sulfatos. El suelo es contaminado principalmente por depósitos de partículas del aire y con agua contaminada por actividades industriales.

Ahora bien, ya que el presente trabajo sólo estudia plomo en aire, para otras áreas, se remite al lector a las citas(12, 13 y 14).

ZONA	(mín-máx)
Aeropuerto	73-890
Tlalpan	41-957
Viaducto-Piedad	43-578
Zaragoza	10-320
Centro	6-107
Tlalpan-Ermita	55-110
Iztacalco	18.8-58.9
Reforma	13-54
Carr. Méx-Toluca	1.0-53
Azcapotzalco	41-68
Periférico Norte	12-182
Insurgentes Centro	4.0-176
Refinería	28-68
Ermita-Churubusco	58-88
Av. Revolución	2.0-33
Gustavo A. Madero	3.0-9.0
Estadio Azteca	2.1-2.7
Desierto de los Leones	0.0-0.5
Xochimilco	0.0-2.0
Milpa Alta	0.0-1.7

TABLA 3
Concentraciones de plomo en algunas avenidas de la ciudad de México ($\mu\text{g/g}$) (4)

Exposición al plomo de la población en general y ocupacional

Las concentraciones de plomo en aire aumentan proporcionalmente a la población por la diligencia industrial que lleva consigo. Así por ejemplo, en urbes densamente pobladas como la ciudad de México la concentración ha ascendido incluso por arriba del permisible ($1.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$) y conforme nos alejamos del área este metal disminuirá progresivamente. Para nuestra ciudad, el plomo ambiental va directamente relacionado a la intensa carga vehicular, más de 2,800 millones de vehículos automotores circulando diariamente y la ubicación de muchas fábricas básicamente en la zona norte de la ciudad donde sus principales desechos son compuestos que llevan plomo. Las características orográficas y climáticas donde se encuentra situada la ciudad de México debido a que es una cuenca, y los vientos predominantes van de NE a SO, provocando que no haya una renovación importante de aire, dado que las principales industrias se localizan en la zona norte los desechos ambientales son acarreados al sur donde tienen en su camino una descomposición química. Todas estas características junto con otros puntos que se verán más adelante, confieren a la ciudad de México un ambiente único en su género, para el estudio de problemas ambientales.

Los individuos más susceptibles a cualquier tipo de intoxicación con plomo son los niños, ellos por ejemplo juegan en la calle, donde puede haber intenso tráfico vehicular y así respirar el polvo y humo de los automóviles. En sus casas si la pintura de estas se encuentran en mal estado, es un medio de contaminación por plomo ya que los niños pueden entrar en contacto con la pintura descarapelada y llevar sus manos a la boca o a cualquier otra parte del cuerpo, también la pintura de muchos juguetes y lápices son a base de plomo y que los niños acostumbran morderlos.

En muchos casos es difícil detectar la intoxicación por plomo ya que no da síntomas específicos. El plomo provoca en el niño nerviosismo, irritabilidad, hiperactividad entre otros(12).

En últimas fechas se ha dado gran importancia a la concentración de plomo intramuros. Las partículas muy pequeñas que se encuentran en el ambiente extramuros fácilmente puede introducirse por las ventanas de las casas, la cocción de variados alimentos en recipientes de barro revestidos con una capa de barniz la cual como materia prima lleva plomo, la pintura de interiores entre otros, todos estos forman en conjunto un ambiente con plomo intramuros(12).

Otra fuente de exposición de la población en general al plomo es el agua. En muchas ocasiones el plomo ambiental encuentra su albergue en ella alcanzando concentraciones de $50 \mu\text{g}/\text{l}$ como máximo(12). Estas concentraciones pueden elevarse debido al almacenamiento en contenedores que llevan plomo, este tipo de almacenaje modifica el pH del agua lo que altera su forma química, asimismo sucede en contenedores de plástico lo que

produce una lixiviación del plomo en agua (en este caso probablemente el plomo provenga de los estearatos de plomo que se utilizan como estabilizadores en la fabricación de plásticos de polivinilo)(12).

Con respecto a los alimentos, se puede encontrar este metal en las latas (recubrimientos) ya que estas llevan soldadura de plomo. Los desechos de algunas industrias vertidos en los mantos acuíferos pueden llevar a que los organismos tales como pescados y mariscos existentes en el habitat contaminado asimilen este metal, y estos al ser capturados para su consumo humano lleven intrínsecamente concentraciones elevadas de plomo. El consumir hortalizas y tubérculos que fueren regados con aguas tratadas, también eleva la posibilidad de intoxicación por este metal.

Ahora bien la presencia de plomo en la leche materna, es de interés muy particular ya que es la vía (quizá la más importante) de adquisición de plomo por el lactante(12). Se han registrado concentraciones aproximadas de $12\mu\text{g/l}$, variando esta por la actividad y rutina de la madre.

Otra fuente de exposición al plomo es el hábito de fumar, estudios realizados acerca del contenido de plomo en cigarros de diferentes marcas llevó a los resultados de 21, 41, 84 $\mu\text{g/cigarro}$ la cantidad de plomo inhalada fue de 1, 1.9 y 3.3 $\mu\text{g/cigarro}$ respectivamente, las proporciones de arsénico y plomo en el cigarro en este estudio posiblemente vengan del arseniato de plomo que se utiliza como insecticida en las plantaciones de tabaco(12).

Por último tenemos el saturnismo causado por la utilización de cosméticos faciales principalmente en mujeres, se comprobó que los polvos, pastas y líquidos faciales contenían hasta 67% de plomo ya que algunos productos se elaboraron con sulfuro de plomo(12).

Sin embargo la mayor problemática social que se presenta por intoxicación con plomo esta dada por la exposición ocupacional. Los trabajadores que funden, refinan y utilizan plomo para la fabricación de varios artículos son los que mayormente preocupan a la sociedad ya que ellos son los que van a estar en contacto directo con la madre y los niños. La principal vía de exposición al plomo ocupacional es la inhalación (fracción respirable menor de $5\mu\text{m}$), el sulfuro de plomo es insoluble y la absorción por vía pulmonar es reducida, sin embargo, en el estómago este compuesto puede convertirse en cloruro de plomo que es ligeramente soluble y así absorberse en cantidades moderadas(12).

Los procesos en los cuales se calientan metales que contienen plomo a altas temperaturas son potencialmente peligrosos porque conlleva la formación de partículas de plomo respirable. Por ejemplo en la construcción, las estructuras de plomo se revisten con pintura a base de plomo antes del montaje final, la soldadura también puede ser a veces peligrosas cuando el revestimiento es de silicato de zinc ya que contiene concentraciones elevadas de plomo. Con buena ventilación la soldadura de acero cubierta por el compuesto de zinc produciría

concentraciones de plomo de $180 \mu\text{g}/\text{m}^3$ junto a la nariz del soldador y de $70 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ en sangre(12).

Otra forma de exposición ocupacional esta dada por el empleo de estearatos de plomo como estabilizadores en la fabricación de cloruro de polivinilos, ya que los estearatos de plomo se muelen y el polvo que se genera es de tamaño respirable(12).

En general se pueden observar las diferentes exposiciones ocupacionales con riesgos elevados y moderados en el Cuadro A.

Riesgo elevado

- fundición de plomo
- soldadura y corte de construcciones metálicas
- soldadura de láminas revestidas con silicato de zinc
- fabricación de acumuladores
- producción de pinturas a base de plomo
- mezcla de estabilizadores de plomo con cloruro de polivinilo
- mezcla de base de vidrio para cristal
- lijado o raspado de pintura a base de plomo
- calcinación de plomo en talleres de esmaltado
- reparación de radiadores

Riesgo moderado

- minería de plomo
 - plomería
 - fabricación de cables
 - fabricación de alambres
 - moldeo de plomo
 - fundición de tipos para imprentas
 - reparación de automóviles
 - soplado de cristal de plomo
 - fabricación de cerámica y vidrio
-

CUADRO A
Riesgo relativo de intoxicación plúmbica en
algunas ocupaciones(12)

Sistema nervioso

La exposición prolongada al plomo puede causar un cuadro denominado encefalopatía saturnina con signos y síntomas que van desde cambios psicológicos y conductuales hasta cambios neurológicos graves. Trabajos experimentales en ratas han demostrado anomalías del comportamiento como el aseo excesivo y agresividad. Lo más importante de esto es que al efectuar un tratamiento contra intoxicación de este metal no siempre es reversible. Celularmente se sabe que el plomo inhibe de alguna manera la transmisión sináptica en el sistema nervioso periférico y que los efectos son reversibles con la administración de calcio(12).

Se ha observado que los niños con encefalopatía plúmbica habitualmente quedan con secuelas. Los niños menores de cinco años sufren un deterioro en su desarrollo psicomotor. Este y los demás efectos mencionados arriba pueden causarse con concentraciones de plomo en sangre de tan sólo 10 µg/100 ml(6).

Sistema hematopoyético

Uno de los más importantes efectos del plomo en el organismo es la alteración de la síntesis del grupo hemo, esto se manifiesta con la aparición de sangre en la orina (hematuria) y clínicamente por una palidez acentuada (anemia)(12).

Los eritrocitos constituyen el punto crítico de la acción tóxica con plomo, ellos son los primeros afectados a concentraciones bajas de este metal. El plomo obstruye la transferencia de hierro ya que causa acumulación de este en forma de "micelas ferruginosas" en eritrocitos en desarrollo(12), además que interfiere con la enzima sintetasa del ácido delta aminolevulínico (AAL-S). Estas interferencias se dan en médula ósea(12).

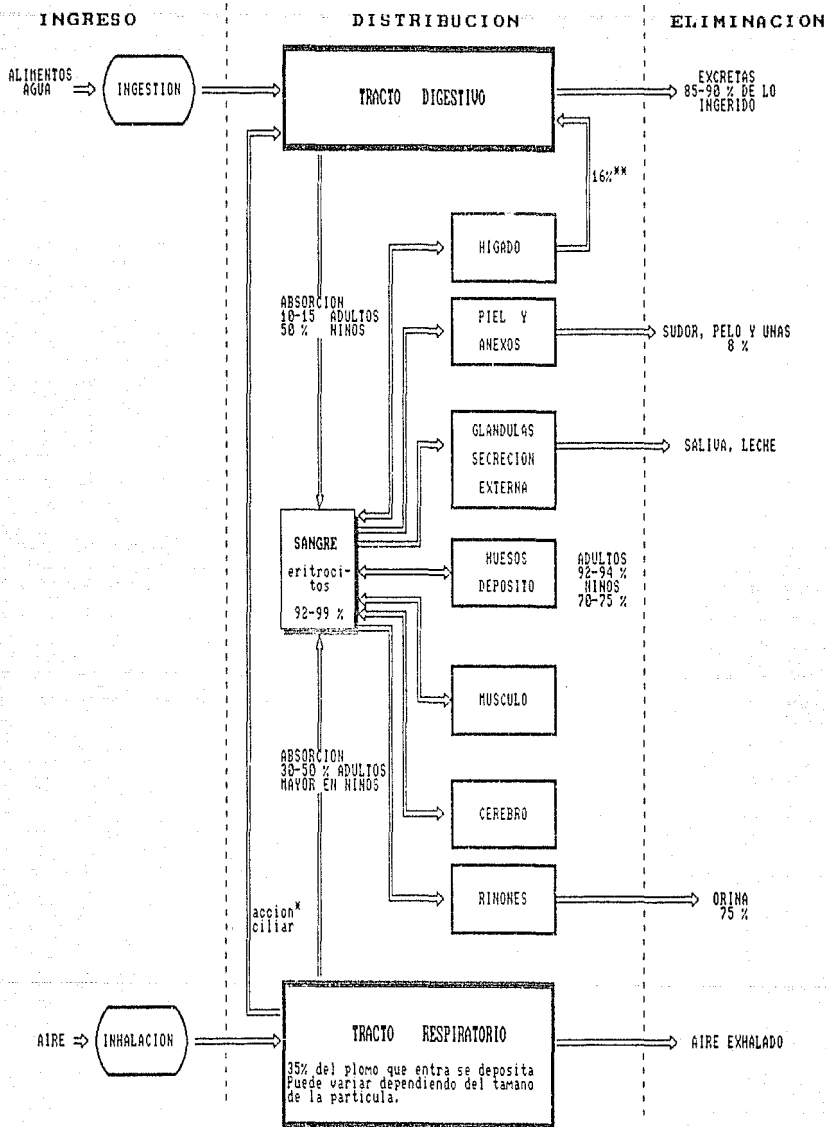
Aparato urinario

Se ha observado lesión tubular proximal caracterizada por aminoaciduria.

En la población ocupacionalmente expuesta se ha encontrado fibrosis peritubular e intersticial difusa o lo que se conoce comúnmente como nefropatía saturnina crónica con signos y síntomas muy graves, que van desde una atrofia renal hasta la insuficiencia. Estas manifestaciones pueden mostrarse mucho tiempo después de la exposición, lo que da pauta a tener mucho más cuidado con niños y lactantes(12).

Estudios realizados en riñón han mostrado la aparición de cuerpos de inclusión intranuclear, que constituyen un mecanismo de secuestro del plomo, estos cuerpos se han aislado y se ha comprobado que están formados de un complejo de "plomo-proteína". La proteína es insoluble en soluciones fisiológicas y rica en aminoácidos(8, 12).

Se ha demostrado que la concentración de plomo en sangre superior a 70 µg/100 ml puede provocar nefropatía crónica



*puede deglutirse hasta un 40 % del plomo inhalado como partículas de diámetro menor

**implica secreciones gastrointestinales, que incluyen la bilis

FIGURA 4

VÍAS DE ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y ELIMINACIÓN DEL PLOMO EN EL ORGANISMO HUMANO

Finkelman, plomo (6)

irreversible(6).

Aparato gastrointestinal

El síntoma más característico del saturnismo es el cólico que es provocado incluso a concentraciones bajas de plomo. Algunas manifestaciones que se han descrito son pérdida de apetito, constipación, diarrea, náuseas, sabor metálico en la boca e ictericia(6).

Sistema reproductor, endócrino y articulaciones

En las mujeres existen efectos como aborto, disfunción ovárica y parto prematuro, en el hombre se dan casos de esterilidad, astenospermia, hipospermia, entre otros(12).

En el sistema endócrino el saturnismo puede deteriorar las funciones de tiroides y suprarrenales(12).

En articulaciones son frecuentes las artralgias debido a la intoxicación por plomo, las cuales son provocadas por interferencia del metal con una enzima llamada aminohidrolasa de guanina que por consiguiente eleva su concentración en el organismo, cristalizándose y depositándose en las articulaciones(6).

Aparato respiratorio

Los macrófagos alveolares de cobayos son dañados in vitro por compuestos inorgánicos del plomo ($3 \mu\text{g}/1 \times 10^6$ células), lo que provoca una lisis rápida y una vacuolización lenta con vesículas gruesas. Más del 90% de células quedan dañadas en un lapso de 20 hrs(12).

Efectos similares parecen producirse en el organismo, ya que en ratas que habían inhalado $10 \mu\text{g}$ de plomo/ m^3 durante 3-12 meses, el número de macrófagos que se pudo extraer de los pulmones se redujo en un 60%(12).

Con respecto a resultados en microscopía electrónica, se ha observado en células epiteliales alveolares de tipo I, la modificación de retículo endoplásmico, así como de mitocondrias(12).

Carcinogenicidad

La inducción de neoplasias benignas y malignas se ha observado en ratones y ratas alimentados con dietas que contenían 100 ó 1000 mg de acetato de plomo/kg de dieta. además de neoplasias se han observado tumores en los testículos, glándulas suprarrenales, tiroides, hipófisis, próstata y encéfalo de rata(12).

Mutagenicidad y Teratogenicidad

Los cromosomas de cultivos de leucocitos de ratones que ingirieron acetato de plomo al 1% en la dieta presentaron un mayor número de aberraciones, las cuales afectaron a una sola cromátida lo que sugiere que la lesión se produce después de la replicación del DNA(12).

No hay estudios apropiados en animales que hayan aportado datos a la idea de que el plomo tenga efectos teratogénicos. Solo se ha comunicado de un caso de anomalías neuromusculares y falta de crecimiento de un niño por saturnismo como resultado del consumo de whisky ilegal por la madre(12).

Monitoreo

Para monitoreo biológico, la concentración de plomo en sangre es el indicador biológico más apropiado para utilizarse en las evaluaciones de exposición, tanto en población expuesta laboralmente como en población en general (Figura 5).

Los niveles de concentración de plomo encontrados normalmente en la población en general, varían de 25 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ de sangre para niños y 30 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ de sangre en adultos. Para la Ciudad de México se encontraron concentraciones de 19-22 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ de sangre en la población en general(15).

En cuanto a monitoreo físico, SEDESOL informó el límite permisible de concentración de plomo en la ciudad de México, que es de 1.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, para el cual en años pasados el promedio ha sido más alto de 7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (algunos autores mencionan concentraciones de 14 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)(4), este dato se obtuvo de la estación localizada en la zona industrial de Xalostoc, también en esta estación el 30% de plomo inhalado corresponde a partículas con diámetro de 1.1 μm (4).

EFFECTOS DEL PLOMO SOBRE LA SALUD

NINOS

CONCENTRACION DE
PLOMO EN SANGRE
($\mu\text{g Pb/dL}$)

ADULTOS

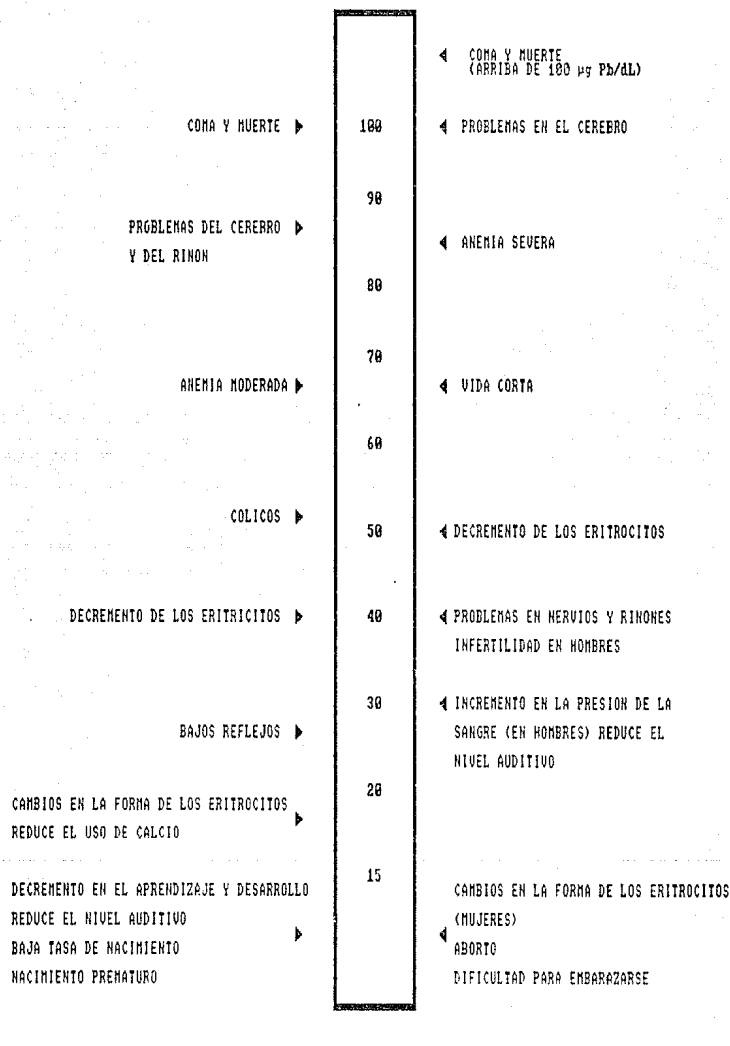


FIGURA 5

NIVELES DE PLOMO EN SANGRE, EN MICROGRAMOS DE PLOMO/DECILITRO ($\mu\text{g/dl}$)
EPA, Lead (2)

Aparato respiratorio y célula de Clara

El pulmón que se encuentran dentro del tórax, es un órgano esponjoso que contiene innumerables conductos por donde pasa el aire inhalado del exterior; estos conductos se van bifurcando haciéndose cada vez más pequeños en diámetro (Figura 6). Mencionan algunos autores que la composición celular del pulmón está dada por 40 células diferentes(16), cada una con una función muy específica. Si recorremos todo el aparato respiratorio encontramos primero la nasofaringe que está compuesta histológicamente por un epitelio plano estratificado para después convertirse en un epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado.

la tráquea formada histológicamente por un epitelio cilíndrico ciliado pseudoestratificado. Hay células productoras de moco (caliciformes) y la pared traqueal presenta cartílagos. El conducto traqueal se bifurca dando lugar a los bronquios cuyo diámetro es menor que el de la tráquea. Estos están compuestos por un epitelio cilíndrico ciliado. A su vez las divisiones dicotómicas bronquiales dan lugar a los bronquiolos que se encuentran cubiertos sus paredes por un epitelio el cual se dispone sobre una delgada lámina elástica, y a su vez está rodeada por una capa muscular sostenida por tejido conectivo. Los bronquiolos físicamente se subdividen en(14):

bronquiolo terminal
(bronquiolo no respiratorio)

|

bronquiolo respiratorio

El bronquiolo terminal tiene principalmente dos tipos decélulas: la célula ciliada y la célula de Clara (Microfotografía 1). Se le llama bronquiolo terminal o no respiratorio porque sólo conduce aire al parénquima.

El bronquiolo respiratorio presenta células ciliadas, células de Clara y conductos alveolares, los cuales a su vez forman los sacos alveolares y los alveolos. El intercambio gaseoso se lleva a cabo entre la sangre de los capilares y el aire dentro de los alveolos(14). Por nuestro trabajo nos enfocaremos al bronquiolo no respiratorio.

Algunos autores mencionan que el epitelio bronquiolar del pulmón de la rata está compuesto aproximadamente por un 65% de células ciliadas y un 35% por células no ciliadas(17). Dentro de estas últimas se encuentran cuatro tipos diferentes que son(17): célula Serosa, célula en Cepillo, célula Intermedia y célula de Clara.

La célula de Clara que se encuentra en bronquios pero es

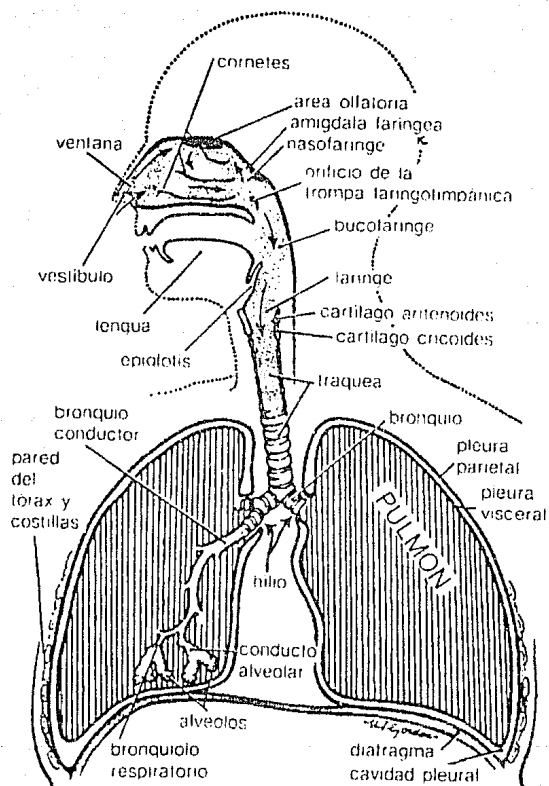
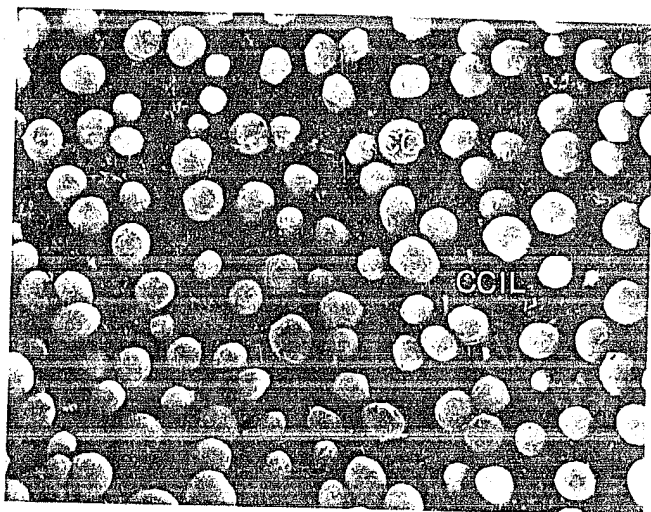


FIGURA 6



MICROFOTOGRAFIA 1

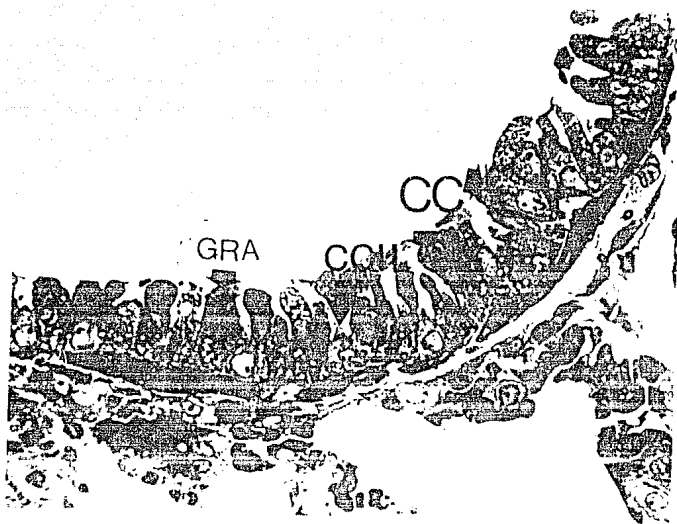
Microfotografía del microscopio electrónico de barrido donde se ven las células de Clara y la superficie de las células cilindricas, en una sección de bronquiola terminal de pulmón de ratón. CC = células de Clara, C. Cil. = células cilindricas. (técnica convencional). Amplificación 1652 X.

más numerosa en bronquiolo no respiratorio, fue descubierta por Koliker, aunque Max Clara en 1937 fue el primero que la describió(18). Estas células son fáciles de identificar ya que hacen prominencia hacia el lumen bronquiolar. Todas presentan una cúpula citoplásmica característica la cual algunas veces muestra microvellosidades(19), los gránulos característicos de la célula de Clara que se encuentran preferentemente en la parte apical de la célula, presenta en su interior fosfolípidos(20), Microfotografía 2. Aún después de haber pasado tanto tiempo desde que fue descrita esta célula, poco se conoce de ella. Se suponía que por los altos contenidos de fosfolípidos en los gránulos producidos por la célula era la productora del surfactante pulmonar(18,20) pero ya se aclaró que el productor del surfactante es el neumocito de tipo II. Es una célula con funciones secretoras(16), contiene gran cantidad de Ap. de Golgi y Retículo Endoplásmico Liso (R.E.L.) (21, 22) localizados en la parte apical de la célula al igual que los gránulos (Cuadro B). Un papel primario que tiene la célula de Clara es el metabolismo de productos xenobióticos en el pulmón, y ser la célula que le da origen a la célula ciliada bronquiolar.

Gránulo	Definición
oscuro	comúnmente ovoide, gránulos electrodensos, diámetro aproximadamente de 0.5 μ m.
claro	comúnmente ovoide, gránulos electrodensos con diámetro aproximadamente de 0.8 μ m.
alargado	gránulos electrodensos con figuras (no se presentan en todas las células), aproximadamente de 0.2 X 1.0 μ m.

CUADRO B

Definiciones de los gránulos de la célula de Clara(23)



MICROFOTOGRAFIA 2

Microfotografía de luz en la cual se muestra un corte transversal semitino de bronquiolo terminal de pulmón de ratón, donde se aprecian células de Clara con sus granulos. Tinción con azul de toluidina. CC = células de Clara, C. Cil. = células ciliadas, GRA = granulos. Amplificación 792 X.

Esta célula tiene gran variabilidad interespecie, a continuación se da, sólo las características esenciales de la célula de Clara en el ratón(24) (Cuadro C):

Núcleo		nucleolo no dentado prominente
Organelos citoplásmaticos	Mitocondria	muchas veces muy densa, en cuanto a su longitud mide alrededor de 0.9 μm y con un ancho de 0.3 μm
	Ap. de Golgi	lateral al núcleo
	R.E.L.	abundante se encuentra en todo el citoplasma
	R.E.R.	presente pero no es abundante
	Polisomas	presentes
	Glucógeno	ausente
	Gránulos	Densos, con tamaño de 0.3 X 0.6 μm
Tamaño de la célula		6.0 - 7.5 μm de longitud

CUADRO C

Características generales de la célula de Clara en ratón(24)

También en la célula de Clara se encuentra el citocromo P-450 que se encarga de metabolizar los productos xenobióticos que llegan al pulmón(25). Al diferenciarse las células de Clara dan origen a otras células del mismo tipo y a células ciliadas(23, 26).

Mecanismos de defensa del pulmón

La armonía de la actividad celular puede verse mermada por múltiples factores externos. Aunque el aparato respiratorio está diseñado para no permitir la entrada a patógenos, son múltiples los efectos causales que lo demeritan. El primer obstáculo de cualquier organismo para una invasión pulmonar en la nasofaringe, que sirve de filtro de partículas con tamaño aproximado de 10 μm de diámetro. Las bacterias son muy pequeñas y pueden adherirse a transportadores donde tendrán un fácil acceso a las diferentes ramificaciones del pulmón. Las partículas son detenidas por los diversos conductos dependiendo de su diámetro y pueden llegar a la parte distal de los pulmones si tienen un diámetro de 5 μm o menor.

Diversos mecanismos de defensa mecánicos, bioquímicos y celulares se presentan en el pulmón. En el tipo mecánico se encuentra la secreción de moco que con la ayuda de los cilios mantienen un buen funcionamiento ciliar²⁴. Ellos son los encargados de mantener el flujo constante de moco⁽²⁷⁾. Con respecto a los mecanismos bioquímicos, varias enzimas como la lactoferrina y la lisozima tienen una fuerte actividad bacteriostática al igual que el surfactante⁽²⁷⁾.

Por último se menciona a los agentes de defensa celulares: los linfocitos y los macrófagos. Algunos otros mecanismos han sido estudiados como la broncoconstricción⁽²⁷⁾.

Cuando hay una entrada constante de partículas al pulmón teniendo poca oportunidad de eliminarlas, estas partículas se van acumulando y depositando en el aparato respiratorio con riesgo de producir enfermedad en el individuo. Un efecto observado en células bronquiales de pulmón de rata por inhalación de tetracloruro de carbono (CCl_4), es hinchamiento de núcleo de la célula de Clara, no hay presencia de gránulos y en general condensación severa y necrosis celular. Cuando el tratamiento es por tricloroetileno (TCE), el epitelio bronquial tiene una respuesta semejante, ya que presenta necrosis celular, condensación y deformación de célula de Clara^(26, 28).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 30 ratones machos cepa CD-1, con peso de 30-35 grs.

Esquema de inhalación:

Los animales inhalaron acetato de plomo 0.1 M en agua desionizada por una hora durante dos semanas: lunes, miércoles y viernes, estas inhalaciones se hicieron en una caja de acrílico totalmente sellada con un volumen de .028m³ con entrada conectada a un ultranebulizador DEVILBISS (Figura 7):

Los animales control sólo inhalaron el agua desionizada (vehículo) en la misma forma que los animales experimentales.

El modelo experimental se definió como sigue:

Modelo experimental

días de inhalación	tiempo de inhalación	[(CH ₃ COO)Pb H ₂ O] en agua des-ionizada	No. de ratones sujetos a inhalaciones de plomo	controles inhalaron agua desionizada
/14 días	/día			
lunes				
miércoles	1 hr	0.1 M	20	10
viernes				

Al término de las dos semanas, los animales se sacrificaron por descerebración, en tiempos preestablecidos como se indica en la Tabla 4.

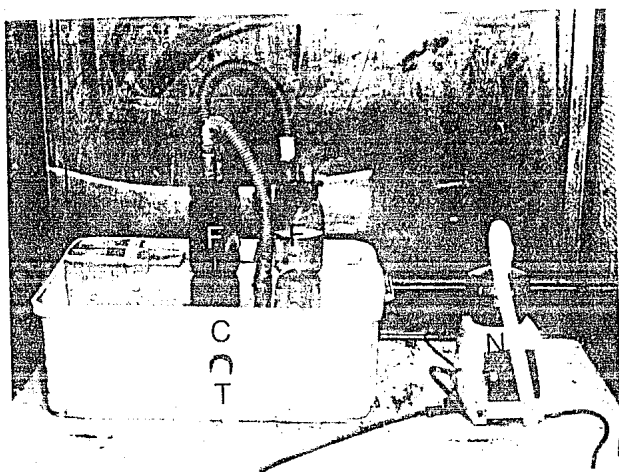


FIGURA 7

Equipo de inhalación de plomo que se utilizó. C = caja donde se colocaron los ratones, N = nebulizador, T = tubo de conexión inhalador-caja, F = frascos para captar plomo

	1 día	3 días	5 días	7 días	10 días
No. de clave	E92 -67	E92- 69	E92- 95	E92- 102	E92- 36
ratones que inhalaron (CH COO)Pb H ₂ O	4	4	4	4	4
No. de clave	E92 -66	E92- 68	E92- 94	E92- 103	E92- 35
ratones controles que inhalaron agua desionizada	2	2	2	2	2

TABLA 4
Programa de sacrificio de los animales

Descerebrados los animales, se expuso el bloque cardiopulmonar vía dos incisiones paraesternales mostrando la cavidad torácica (Foto 1). Se procedió a cortar las clavículas para encontrar la tráquea, misma que se canuló y se llevó a cabo la fijación(II) del pulmón intratraqueal, hasta llegar a capacidad pulmonar total (Foto 2). Después el pulmón fue removido de la cavidad.

El pulmón izquierdo se procesó para microscopía electrónica de transmisión en pequeñas piezas de tejido de 3-5 mm (Microfotografía 3), las cuales fueron postfijadas con tetraóxido de osmio Polyscience al 1% por dos horas, se deshidrataron las muestras en alcoholes de concentración creciente y se incluyeron en araldita 6005. Los cortes semifinos de 90 nm aproximadamente fueron teñidos con azul de toluidina y observados en microscopio de luz para seleccionar las zonas. Los cortes finos de 60 nm aproximadamente se elaboraron con una cuchilla diamante Dupont y se montaron en rejillas de cobre 300 mesh, se contrastaron con acetato de uranilo metílico al 2% y citrato de plomo Reynold's 15 y 10 minutos respectivamente, para ser observados a 60 kilovoltios en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM-10.

(II) Con glutaraldehído al 2.5% en buffer de cacodilatos 0.1 M a pH 7.4 a 470 mosm



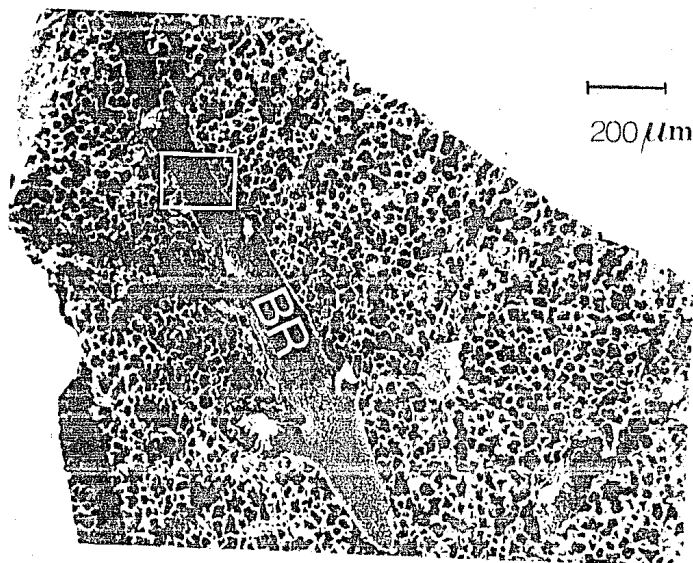
FOTOGRAFIA 1

Pulmón antes de insuflarse. I = tráquea, CO = corazón, la fecha indica el pulmón.



FOTOGRAFIA 2

Pulmon insuflado con fijador, I = tráquea, las flechas indican el pulmon.



MICROFOTOGRAFIA 3

Microfotografía del microscopio electrónico de barrido donde se señala el área de trabajo además del área de transición entre bronquiolos no respiratorio (recuadro) y bronquiolos respiratorio. BR = Bronquiolos respiratorio.

Determinación de plomo en tejido

Las muestras fueron tratadas con una técnica modificada para la digestión de tejido animal(29). Muestras de 0.5 grs de pulmón fijadas en formaldehído se secaron a 150°C (aproximadamente por 20 min) hasta que el formaldehído se evaporó. Las muestras secas se colocaron dentro de vasos de cuarzo los cuales previamente se lavaron con una solución concentrada 1:1 de ácido nítrico y sulfúrico(30). Para digerir las muestras se usó una mezcla con ácido nítrico puro. Se agregaron 2 ml de ácido sulfúrico y las muestras fueron calentadas a 150°C hasta que la digestión se completó. Los vasos fueron cubiertos y la muestra se evaporó hasta obtener un volumen pequeño, se aforó con agua destilada y desionizada a 25 ml y se filtró. Las muestras fueron analizadas por espectrometría de absorción atómica usando un espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo 2380, la fuente del haz fue tomada de una lámpara de cátodo hueco con una longitud de emisión (λ) de 217.0 nm que es la adecuada para la detección de plomo, el límite de detección de este metal fue de 0.37 ppm, con un tamaño de hendidura del espectrofotómetro para la detección del plomo de 0.7 nm, utilizando llama de aire-acetileno. Las muestras fueron analizadas después de obtener el resultado del blanco. Cada muestra fue analizada por triplicado, los valores se expresaron en $\mu\text{g/g}$ de tejido seco de pulmón (Figura 8, se encuentra en resultados).

RESULTADOS

En las muestras controles se puede apreciar que la célula de Clara presenta un límite celular bien definido y en algunas zonas presenta convoluciones. También se puede apreciar sus gránulos de localización preferentemente en la zona apical de la célula, y algunas mitocondrias donde se aprecian sus crestas. Se puede observar retículo endoplásmico liso en la parte media y apical de la célula. Con respecto al núcleo, se observa una membrana nuclear bien definida (Microfotografía 4-5).

A las 24 hrs postinhalación, las células de Clara presentan algunas vacuolas en su citoplasma (Microfotografía 6). Los gránulos ya no se encuentran preferentemente en la zona apical sino más bien en la parte media además que hay muy pocos, algunos otros se encuentran tan cerca de la membrana que tal pareciera se expulsaran a la luz bronquiolar (Microfotografía 7). En algunas células el núcleo pareciera estar bilobulado o invaginado (Microfotografía 7). El retículo endoplásmico liso, que preferentemente ocupa la parte apical de la célula, se encuentra ahora en la parte basal, además que se aprecia dilatado (Microfotografía 7). Con respecto al Reticulo Endoplásmico Rugoso también se observa dilatado y ocupa la parte media y central de la célula (Microfotografía 6). Se llegan a apreciar algunos cuerpos multivesiculares (Microfotografía 6).

Uno de los tiempos donde se observaron mayores cambios ultraestructurales después de la última inhalación, es a los tres días, en este caso se aprecian algunas vesículas en el citoplasma que ocupan la parte media y basal de la célula (Microfotografía 8). Se presenta aumento de gránulos comparados con el control (Microfotografía 8), algunos de ellos se encuentran tan cercanos a la membrana de la célula que tal pareciera expulsan su contenido a la luz (Microfotografía 8).

Otra alteración que se observó es una estructura circular en el citoplasma en cuyo centro se encuentran gránulos (Microfotografías 8-9), esta estructura ocupa preferentemente la parte apical de la célula. Dicha alteración se observa en algunas células sólo una vez, en otras aparece dos hasta tres veces presentándose con diferente tamaño (Microfotografía 8). La estructura circular más grande alcanza un diámetro un poco mayor de las 4 μm y tal pareciera que empuja a los organitos citoplásmicos hacia la periferia celular (Microfotografía 9). En varias células el núcleo se hincha y ya no ocupa la parte basal, migra a la parte media incluso en algunas se encuentra en la parte apical de la célula (Microfotografía 8). Además que presenta unos cuerpos que semejan nucleolos deformados (Microfotografía 8). Se observa un cuerpo multivesicular en la célula de Clara, y gran cantidad de Retículo Endoplásmico Rugoso y ribosomas en toda la célula la célula en general presenta edema de la misma (Microfotografía 9).

A los cinco días después de la última inhalación, el núcleo toma una apariencia completamente diferente a la normal, se observa un núcleo deforme en algunas células está bilobulado o envaginado (Microfotografía 10). Este organelo ocupa preferentemente la zona media de la célula y se observa muy grande. En este tiempo también se llega a observar como en el tratamiento anterior una estructura circular en el citoplasma que ocupa preferentemente la parte apical de la célula (Microfotografía 10). Los gránulos son escasos y ocupan la parte apical y media de la célula (Microfotografías 10-11). Otros como en el tiempo de 24 hrs y tres días los gránulos se encuentran tan cerca de la membrana celular que tal pareciera son expulsados o expulsan su contenido a la luz bronquiolar (Microfotografía 11), se llegan a observar algunos cuerpos multivesiculares (Microfotografía 11) y aumenta el número de mitocondrias en el citoplasma (Microfotografía 10).

Con respecto a los siete días de se muestra una evidente hiperplasia e hipertrofia de las células de Clara, el núcleo nuevamente se presenta anormal como si Mw algunos lados se estrangulara además se presentan unos cuerpos dentro de él con igual apariencia (Microfotografía 12). Algunas células presentan nuevamente en el núcleo el fenómeno bilobulado o invaginado. Nuevamente como en las anteriores microfotografías, se aprecian gránulos en la parte media y basal de la célula (Microfotografía 12). Los gránulos nuevamente se encuentran tan cercanos a la membrana celular que tal pareciera son expulsados o expulsan a la luz bronquiolar su contenido (Microfotografía 12). También hay presencia de algunas vesículas en la parte basal de la célula (Microfotografía 12).

A los diez días postinhalación los animales tratados presentan características morfológicas muy semejantes a la de la muestra control. Se llegan a observar algunos cuerpos multivesiculares dentro de las células de Clara (Microfotografía 13). Los gránulos en el citoplasma de las células de Clara tienden a ocupar la parte apical de la célula (Microfotografía 13-14). Hay la presencia de algunas vesículas (Microfotografía 14). Con respecto al núcleo tiende a parecerse al normal aunque en algunos casos todavía se presentan dos cuerpos con igual densidad dentro de él (Microfotografía 13), se llega a apreciar todavía retículo endoplásmico rugoso un poco dilatado dentro de la célula de Clara (Microfotografía 15).

En referencia a la preparación del material biológico, se procesó con una técnica convencional y dentro de ella se hicieron las modificaciones siguientes:

Al inicio se fijó el material con glutaraldehído 2.5%-formaldehído 4% en buffer de fosfatos a pH 7.4, esas primeras muestras se observaron en el microscopio de transmisión con mucha extracción del material celular por lo que se decidió usar solamente glutaraldehído al 2.5% en buffer de cacodilatos 0.1 M con un pH 7.4 a 470 mosm.

Se observó que el pulmón de ratón es por naturaleza de bajo contraste por lo que no se usó el uranilo acuoso convencional sino alcohólico y citrato de plomo Reynold's para mejorar el contraste.

Se incluyó en Epón las muestras de pulmón y la práctica mostró algunos problemas para nuestra técnica como son: El no poder usar fragmentos un poco más grandes de las muestras, por lo que limitaba poder escoger la zona idónea de trabajo, por lo tanto se escogió trabajar con araldita ya que esta permite usar fragmentos más grandes y se infiltra mejor en el tejido que el Epón (cabe hacer notar aquí que el tejido en estudio permitió mejores resultados en araldita que en Epón ya que es un tejido esponjoso y absorbe mejor el compuesto donde se encuentre incluido). Por último otras de las razones para usar araldita es que tiene mayor resistencia al haz de electrones que el Epón(31).

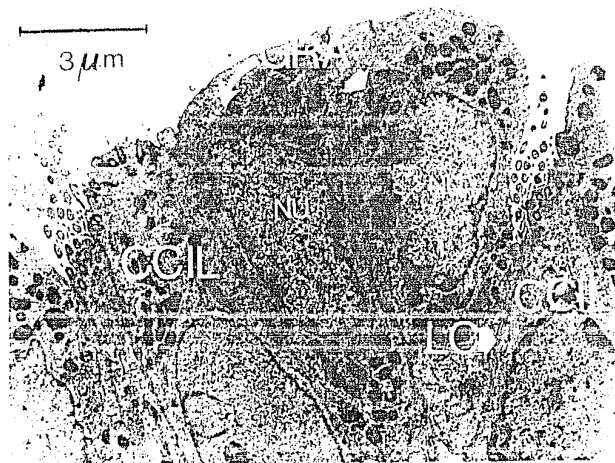
Se presenta en forma resumida los principales organelos de la célula de Clara que mostraron algún tipo de modificación por la inhalación de plomo en la Tabla 5.

Por último se tiene la concentración de plomo en tejido pulmonar de ratón (Figura 8), donde se aprecia que al primer día después de la última inhalación la concentración de plomo es la más alta del estudio y gradualmente baja hasta llegar a concentraciones de plomo de 0 $\mu\text{m/g}$ de tejido seco.



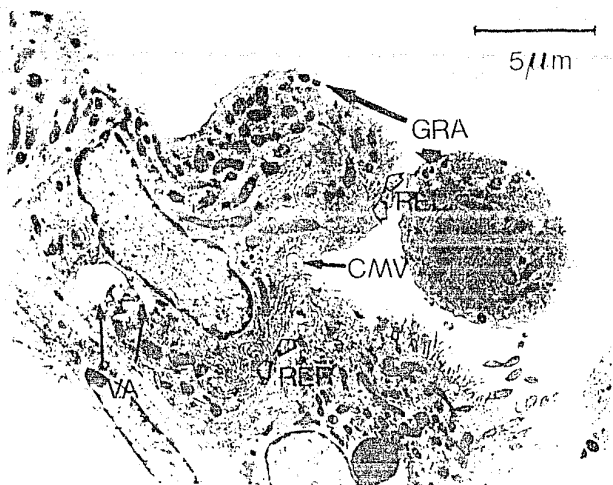
MICROFOTOGRAFIA 4

Microfotografía electrónica de transmisión de una muestra control donde se observan dos células de Clara con sus respectivos orgánulos citoplásmicos. GRA = granulos, NU = nucleo, LC = límite celular, VE = vesículas, CC = células de Clara. Amplificación 7500 X.



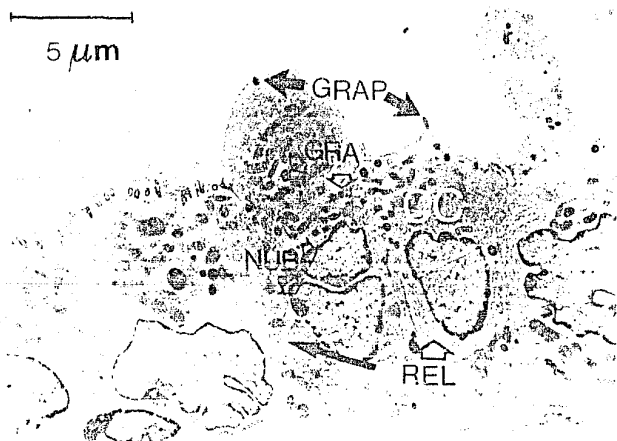
MICROFOTOGRAFIA 5

Microfotografía electrónica de transmisión de una muestra control donde se aprecian varias células de Clara y dos células cilindricas. GRA = granulos, NU = nucleo, LC = límite celular, CC = células de Clara. Amplificación 7500 X.



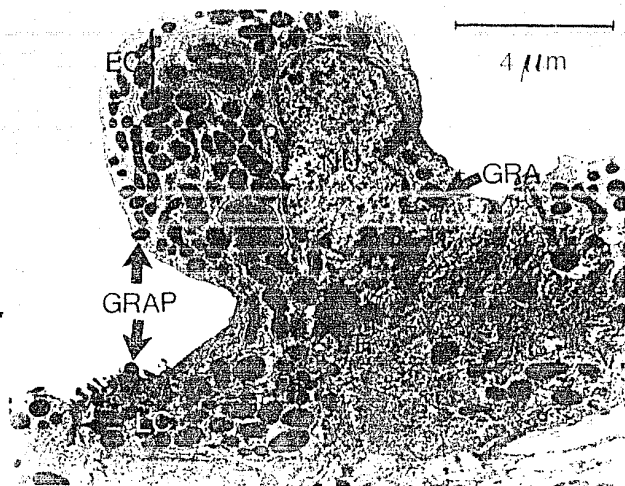
MICROFOTOGRAFIA 6

Muestra tratada con tiempo de 24 hrs. postinhalación, en la cual se muestra las células de Clara donde es evidente la presencia de algunas vacuolas citoplasmáticas y de numerosas vesículas. Se aprecia retículo endoplásmico rugoso y liso y al parecer tres cuerpos multivesiculares y pocos gránulos. GRA = gránulos, CC = células de Clara, VA = vacuolas, REL = retículo endoplásmico liso, CMV = cuerpo multivesicular. Amplificación 4725 X.



MICROFOTOGRAFIA 7

Muestra tratada con plasma y tiempo de 24 hrs. postinhalación donde se aprecia el epitelio bronquiolar en el que se identifican células de Clara que muestran modificaciones en la estructura del núcleo tipo bilitulado o invaginado, así como disminución en el número de gránulos, se hace evidente la gran cantidad de retículo endoplásmico liso. CC = células de Clara, NUB = núcleo bilitulado, GRA = gránulos, REL = retículo endoplásmico liso, GRAP = gránulos cerca de la periferia celular. Amplificación 4725 X.



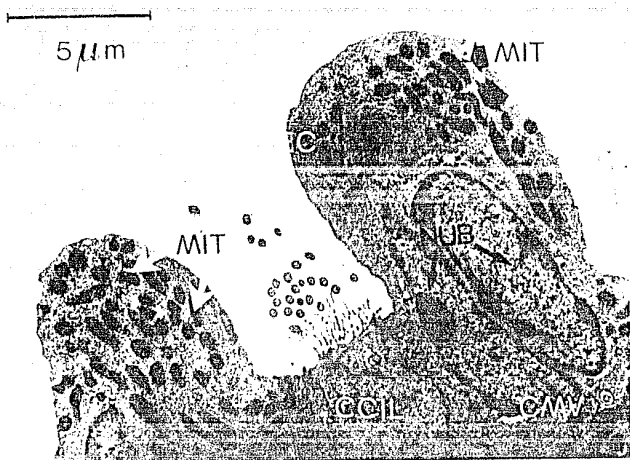
MICROFOTOGRAFIA 8

Muestra tratada con plomo y tiempo de tres días postinhalación en la cual se observa una célula de Clara. Se observan estructuras circulares con apariencia pequeña y rodeando algunos organitos citoplasmicos. Se aprecia núcleo muy prominente y también algunas vesículas. NU = núcleo, GRA = granulos, VE = vesículas, LC = límite celular, GRAP = granulos cerca de la periferia celular. EC = estructura circular. Amplificación 7920 x.



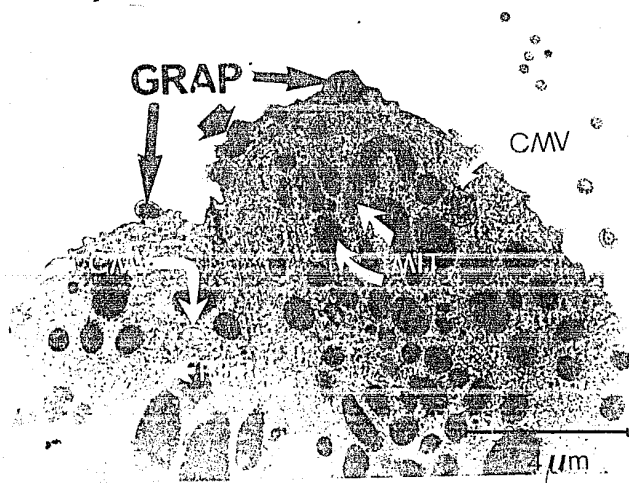
MICROFOTOGRAFIA 9

Muestra tratada con plomo y tiempo de tres días después de la última inhalación. Nótese que la célula de Clara presenta una estructura circular de aproximadamente 4 μm de diámetro que desplaza a los organitos citoplasmicos. RER = retículo endoplasmático rugoso, GRA = granulos, CMV = cuerpo multivesicular, EC = estructura circular. Amplificación 7920 x.



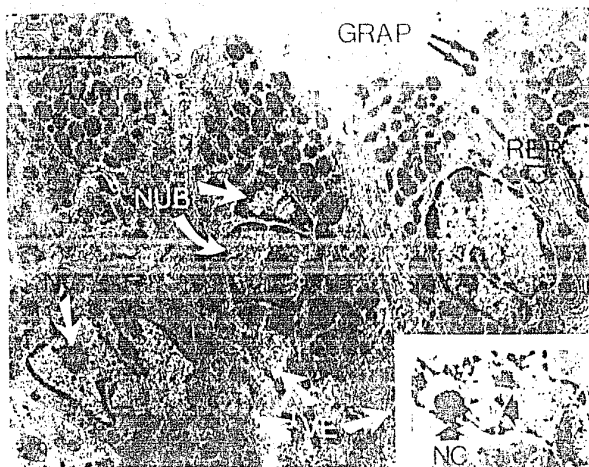
MICROFOTOGRAFIA 10

Muestra tratada con plasma y tiempo de cinco días postinhalación donde se aprecia un núcleo biletulado o invaginado, algunas mitocondrias en la parte apical de la célula, y una estructura circular en el citoplasma, en la parte basal de la célula se observa un cuerpo multivesicular. NUS = núcleo biletulado, MIT = mitocondrias, GCIL = estructura circular, CMV = cuerpo multivesicular, C. Cil. = célula cilada. Amplificación 5400 X.



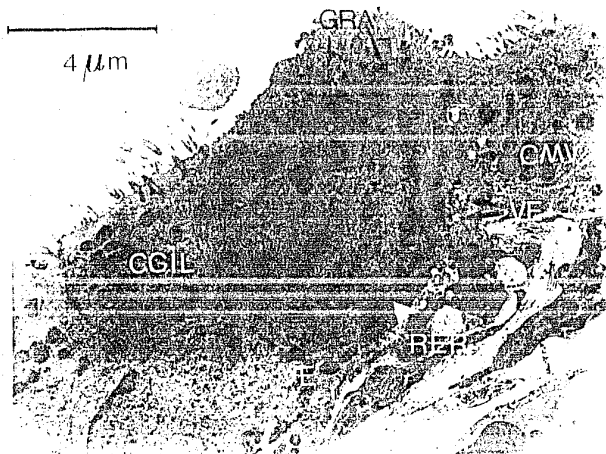
MICROFOTOGRAFIA 11

Acercamiento mayor de una célula de Clara con el mismo tiempo que la anterior donde se observa claramente algunos cuerpos multivesiculares en el citoplasma, algunas mitocondrias y granulos muy cerca de la membrana celular. También se llega a apreciar retículo endoplasmico rugoso cerca de la zona apical de la célula. CMV = cuerpos multivesiculares, MIT = mitocondrias, GRAP = granulos cerca de la periferia celular, RER = retículo endoplasmico rugoso. Amplificación 7920 X.



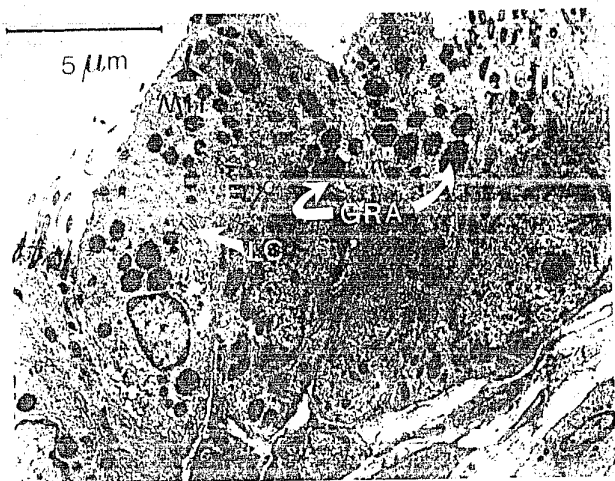
MICROFOTOGRAFIA 12

Muestra tratada con plomo y tiempo de siete días postinfectación, en la cual se observan hiperplasia e hipertrofia de las células de Clara. El retículo endoplásmico rugoso es evidente, se aprecian estructuras o invaginaciones en algunos núcleos de las células (*)(rectángulo), y las modificaciones en la forma del núcleo de tipo bilobulado, hay presencia de algunas vesículas citoplasmáticas en algunas células. RER = retículo endoplásmico rugoso, NC = nucleolo, NUB = núcleo bilobulado, GRAP = gránulos cerca de la periferia celular. Amplificación = 6000 X.



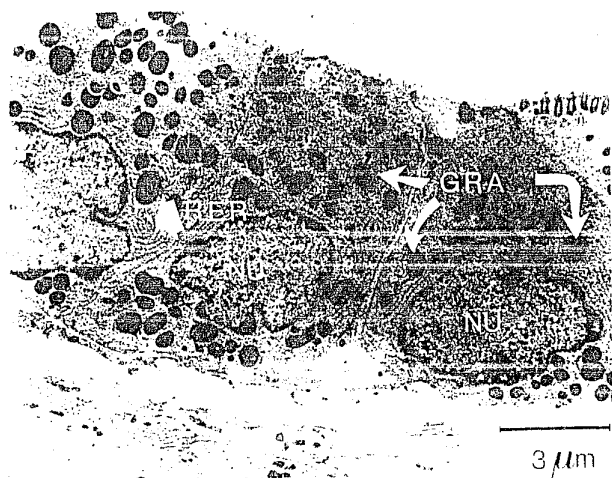
MICROFOTOGRAFIA 13

Muestra tratada y tiempo de diez días postinfectación, donde se aprecian algunas vesículas. La célula de Clara tiende a parecerse a la normal. VE = vesículas, C. Cl. = célula clara, GRA = gránulos, CMV = cuerpo multivesicular, RER = retículo endoplásmico rugoso. Amplificación = 7500 X.



MICROFOTOGRAFIA 14

Muestra tratada con plomo y tiempo de diez días postinhibición en la cual se aprecia las células de Clara con una forma parecida a la del control, no se observan tantas mitocondrias, sin embargo se llega a observar granulos con diferentes tamaños, persisten aquí también vesículas y el citoplasma tiene apariencia granular. MIT = mitocondria, GRA = granulos, VE = vesículas, LC = límite celular, C. Cil. célula cilíada. Amplificación 6000 X.



MICROFOTOGRAFIA 15

Muestra tratada con plomo y tiempo de diez días postinhibición en la cual se aprecia las células de Clara muestran una imagen parecida a la del control, se observa retículo endoplasmático rugoso y el citoplasma con apariencia granular. C. Cil. = célula cilíada, RER = retículo endoplasmático rugoso, NU = núcleo, GRA = granulos. Amplificación 7500 X.

CONCENTRACION DE PLOMO EN PULMON DE RATON

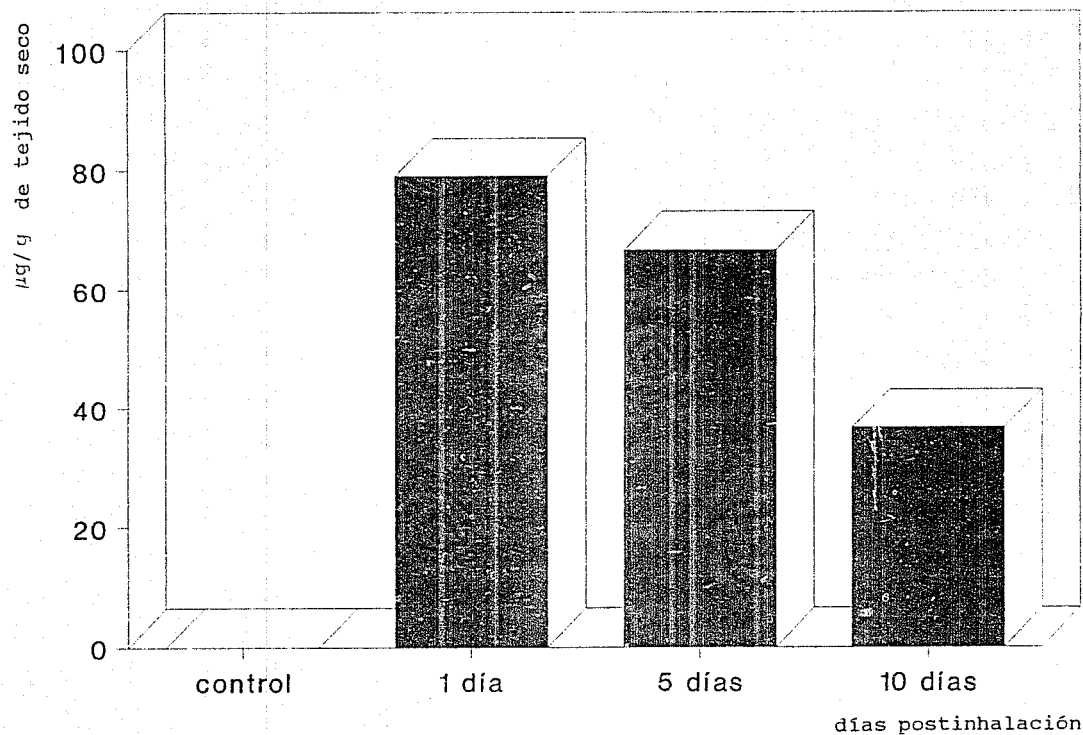


FIGURA 8

TABLA 5
Organelos en la Célula de Clara que se ven modificados por la inhalación con plomo

org Tpo postinhalación	MIT	NU	NC	RER	REL	GRA	CMV en c/cél observados generalmente	OBSERVACIONES
control	+	+	+	+	+	+	1	Sin cambios
1	+	++	+	++	++	++	2	Núcleo bilobulado o invaginado, menos gránulos, vacuolización
3	*	++	++	++	+++	+++	2	Estructura circular con varios tamaños y englobando algunos organitos citoplásmicos, núcleo deforme en la parte media de la célula, presencia de vesículas
5	++	++ +	+++	+++	+++	+++	3	Núcleo bilobulado o invaginado, estructura circular preferentemente en la zona apical de la célula, presencia de varios cuerpos multivesiculares en células de clara
7	*	++ +	++	+++	++	++	3	Hiperplasia e hipertrofia de la célula de Clara, núcleo bilobulado, con apariencia de estrangulamiento, en algunos se presentan estructuras intranucleares de diferente densidad (*).
10	*	+	+	+++	+	++	1	En este tiempo postinhalación no presenta grandes cambios ultraestructurales salvo el RER y algunos gránulos

+ normal no hay cambios aparentes
 ++ cambios moderados
 +++ cambios severos
 * no se aprecia

DISCUSIÓN

Con este estudio se pudo apreciar el daño ultraestructural que causó el plomo a células bronquiolares de pulmón de ratón.

Se puede apreciar en este trabajo la afinidad que tiene este metal por algunos organelos de la célula de Clara, como el núcleo que desde el principio se mostró morfológicamente diferente. Los estudios que se han realizado acerca del plomo y daño celular se han elaborado principalmente en células del riñón e hígado donde en la literatura se cita que el plomo forma en el núcleo un complejo de plomo-proteína, pudiera ser que dichos cambios encontrados en este estudio en el núcleo de las células de Clara sea ese complejo plomo-proteína que se menciona en la literatura. Goyer, R. A. et al Cellular effects of lead(5). Secuencialmente en los diferentes días de postinhalación, el núcleo se presenta en algunas células bilobulado o invaginado, si esta deformación es por el plomo, entonces puede indicar con esto alteraciones de la información del núcleo. El retículo endoplásmico rugoso se encuentra dilatado lo que puede indicar con esto deficiencia en la síntesis de proteínas(32). Lo mismo sucede con el retículo endoplásmico liso se observa dilatado lo que puede implicar mayor producción de lípidos o esteroides(33). Los gránulos ya no se encuentran preferentemente en la zona apical de la célula de Clara, lo que puede indicar que el plomo actúa sobre estos organitos, si bien no se sabe si es modificando su contenido o al menos moviéndolos dentro del citoplasma, algunos tan cerca de la membrana celular que pareciera que vertieran su contenido hacia afuera. Lo característico de estos gránulos es que en su interior presentan gran cantidad de fosfolípidos. Si uno de los responsables en la formación de lípidos en la célula es el retículo endoplásmico liso y también se encuentra dañado(33), esto pudiera ser una razón del aumento de gránulos en el citoplasma en ciertos días postinhalación (preferentemente el séptimo).

En el tiempo de 24 hrs. la concentración de plomo en tejido seco alcanzó un nivel de 80 $\mu\text{g/g}$ (el más alto de la Figura 8 que se muestra en los resultados), sin embargo las alteraciones observadas en este tiempo no son tan severas como en las siguientes etapas de postinhalación esto pudiera deberse a que es el día más cercano a la última inhalación y las células no han tenido el tiempo suficiente para asimilar el plomo. Los cambios expuestos en este tiempo en cuanto al núcleo, pueden sugerir que hay deficiencia en las actividades nucleares(26, 28), a grado tal que llegan a afectar al nucleolo, dichos cambios pudieran llevar consigo alteraciones a nivel cromosómico incluso hasta genético.

Las alteraciones notables que presentan las células de Clara empiezan al tiempo de tres días, donde la concentración de plomo por tejido seco se encuentra entre el rango de 65-80 $\mu\text{g/g}$. En dicha etapa se muestran, los gránulos que presentan diferentes densidades (clara y oscura) esto puede sugerir que ellos en su interior guardan algún material de diferente naturaleza, esto puede explicar el acercamiento de ellos a la membrana celular, estos cambios granulares son muy marcados ya que en la célula de Clara control no se llegan a presentar. La estructura circular

de la cual se habla en los resultados pareciera ser retículo endoplásmico liso, si esto es así, dichos cambios pueden sugerir deficiencia en la síntesis de lípidos(33).

El tiempo de cinco días postinhalación se compagina con una de las más altas concentraciones de plomo por tejido seco (65 mg/g), de la gráfica presentada en los resultados. el retículo endoplásmico liso se observa degenerado(33) y tiende a rodear a algunos gránulos, la disposición que toma este organelo en la célula no es habitual y esto al parecer es consecuencia de la inhalación con plomo, con respecto al núcleo la apariencia es binucleada y en algunas células da idea de estrangulamiento, a partir de este tiempo el núcleo se muestra totalmente irregular y esto puede dar pauta a que las funciones nucleares no sean normales(26, 28).

Con respecto al séptimo día postinhalación, las células de Clara aumentan en número (hiperplasia), la mayor proliferación de estas células está dada en este tiempo, esto puede ser debido a que la célula de Clara como es la célula madre se encuentre regenerando el epitelio(18). el retículo endoplásmico liso y rugoso aumentan lo que puede implicar que se encuentren dañados, además hay vesículas en el citoplasma, lo que puede sugerir la destoxificación de la célula(32).

Por último al tiempo de 10 días postinhalación no se observan grandes cambios, tal pareciera que la célula se está recuperando.

Los menores cambios ultraestructurales de las células de Clara se presentan en el primer día postinhalación (24 hrs), esto puede ser debido a que la célula apenas está asimilando el plomo; aunque la mayor concentración del metal en tejido seco sea a este tiempo, sin embargo, se aprecia que estos cambios son graduales teniendo los mayores daños a la mitad del tiempo programado (tres y cinco días), recuperándose las células al partir de los 10 días postinhalación ya que no presenta cambios ultraestructurales apreciables. Aquí la proporción de células de Clara es normal como el control, esto se puede deber a que la célula tuvo el tiempo suficiente para regenerarse, además que la concentración de plomo en tejido seco en este tiempo no es detectable.

CONCLUSIONES

Se puede apreciar con lo anterior que el ambiente en el cual fue expuesto el ratón es realmente nocivo para sus células bronquiolares terminales. Se observó esto en los cambios mostrados ultraestructuralmente por las células de Clara. Esta sufrió alteraciones desde el primer día postinhalación.

Los organelos más dañados fueron el retículo endoplásmico liso, retículo endoplásmico rugoso, núcleo y gránulos.

Algunos metales que se encuentran en la naturaleza, se ha demostrado que alcanzando concentraciones elevadas en el ambiente son perjudiciales para la salud del hombre y los animales. El plomo no es la excepción, se observa en este estudio que los ratones en experimentación son altamente susceptibles a las inhalaciones agudas de este metal. Ahora bien, durante la fase de inhalación se observó disnea durante unos 30 min. después de las inhalaciones esto no sucedió en todos los animales.

Los únicos estudios existentes hasta el momento de daño celular y contaminación por plomo sólo se presentan en riñón e hígado. Por lo anterior expuesto se considera que el presente trabajo es pionero en el tema y cabe aquí notar la necesidad de que se sigan realizando más investigaciones en el área ya que este aunado a los estudios existentes en riñón e hígado podrán ayudar a entender el comportamiento de diversos metales en diferentes órganos y sistemas del cuerpo.

Se recomienda en futuras investigaciones de este tema, realizar un estudio citoquímico a las muestras tratadas y controles presentadas en este trabajo, para corroborar que las alteraciones presentadas en los organitos citoplásmicos de la célula de Clara sean los que aquí se sugieren (se sugiere que la estructura circular es retículo endoplásmico liso).

GLOSARIO

Ad libitum
Libremente

Apócrino
Células secretoras (glándulas)

Aminoaciduria
Eliminación de aminoácidos por orina

Astenospermia
Disminución de la movilidad del espermatozoide

Artralgias
Dolor en articulaciones

Carcinogénico
Que produce cáncer

Carcinoma
Cualquiera de los tipos de neoplasma maligno derivado de tejido epitelial en diversos sitios. Tumor maligno

Célula caliciforme
Es la productora de moco, falta en bronquiolos menor de 1 mm ayuda en la defensa contra agresiones del aparato traqueobronquial

Constipación
dificultad para obrar

Diafragma
Tabique musculotendinoso que separa el tprax del abdomen, tiene forma de cúpula

Edema
Acumulación excesiva de fluido acuoso en células, tejidos o cavidades serosas

Encefalopatía
Alteración del encéfalo

Glucosuria
Glucosa en orina

Hematuria
Sangre en la orina

Hiperfosfaturia
Aumento de fósforo en la orina

Hipofosfatemia
Disminución de fósforo en sangre

Hipospermia
Disminución de la producción de esperma

Ictericia

Coloración amarillenta de la piel

Leucopenia

Baja en la cantidad de leucocitos, en la sangre circulante el número de leucocitos es menos que la normal

Lixiviación

Separar por medio de agua u otro disolvente una sustancia soluble de una insoluble

Mutagénico

Que produce mutaciones, cambios a nivel cromosómico

Plasia

Prefijo: formación elevada

Pleura

Membrana serosa que cubre al tórax y envuelve los pulmones

Microvellosidades

Proyecciones pequeñas de membranas celulares, que incrementa la superficie de área

Metaplasia

Cambio anormal de un tejido adulto, por otro igual pero con otra función

Neo

Prefijo: nuevo o reciente

Nefropatía

Enfermedad del riñón

Nosológicas

Estudia la clasificación de las enfermedades

Saturnismo

Intoxicación por plomo

Teratogénico

Que produce alteraciones en el desarrollo del producto (feto)

Xenobióticos

Sustancia activa fármaco endócrino o toxicológicamente no producida endógenamente y además extrana al organismo

REFERENCIAS

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- (1) CONADE. 1986. Folleto de Inversión térmica.
- (2) Environmental Protection Agency. 1986. Air Quality Criteria for Lead. Vol. III. USA.
- (3) González, G.R., Páramo, F. H., Domínguez, T. R., Páez, Z. G. 1991. Comportamiento histórico de la contaminación atmosférica en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México en el periodo 1986-1991. Ingeniería Ambiental. 4(13):6-17.
- (4) Albert, L.A., Badillo, F. 1991. Environmental Lead in Mexico. Rev. Env. Cont.Tox. 117:1-44.
- (5) Goyer, R. A., Moore, J. F. 1974. Cellular Effects of Lead. Adv. Exp. Med. Biol. 40:447-462.
- (6) Finkelman, J. 1989. Plomo. Centro Panamericano de Ecología y Salud.
- (7) Gaceta UNAM. 1990. Se detectó plomo en el esmalte de los niños. 19 de febrero: 20.
- (8) Butler, J.D. 1979. Air Pollution Chemistry. Academic Press. San Fco.: 9-10
- (9) SEDESOL. 1991. Compendio de notas ambientales publicadas en el extranjero durante 1991: 1.
- (10) Fortoul, T.I. 1984. Mecanismos de lesión por algunos contaminantes. Cadmio y su acción patogénica sobre pulmón. Tesis de Maestría en Ciencias Médicas, Fac. Medicina, UNAM.
- (11) Hillam, R.P., Ozkan, A.N. 1986. Comparison of Local and Systemic Immunity After Intratracheal, Intraperitoneal, and Intravenous Immunization of Mice Exposed to Either Aerosolized or Ingested Lead. Environmental Research 39:265-277.
- (12) WHO. 1979. Criterios de Salud Ambiental. Plomo.
- (13) Chisolm, J.J., O'Hara, D.M. 1982. Lead Absorption in Children.
- (14) Ham, A.W. 1984. Tratado de Histología. 8a. Ed. Interamericana. México.
- (15) Lara, F.E., Alagón, C.J., Bobadilla, J.L., Hernández, P.B., Ciscomani, B.A. 1989. Factores asociados a los niveles de plomo en sangre en residentes de la Ciudad de México. Salud Pública de México. 31(5) Sep-Oct: 625-633.
- (16) Boyd, M. R. 1975. Evidence for the Clara cell as a site of cytochrome P450-dependent mixed-function oxidase activity in lung. Nature. 269(20) Oct: 713-715.
- (17) Evans, M. J., Cabral-Anderson B.S.L.J., Freeman, M.D.G. 1978. Role of the Clara cell in the renewal of the bronchiolar epithelium. Lab. Invest. 38:648-655.

(18) Smith, P., Heath, D., Moosavi, H. 1974. The Clara cell. Thorax 29:147-163.

(19) Young, S.L., Fram, E.K., Randell, S.H. 1986. Quantitative Three-Dimensional Reconstruction and Carbohydrate Cytochemistry of Rat Nonciliated Bronchiolar (Clara) Cells. Am. Rev. Respir. Dis. 133:899-907.

(20) Niden, A.H. 1967. Bronchiolar and Large Alveolar Cell in Pulmonary Phospholipid Metabolism. Science. 158:1323-1324.

(21) Plopper, C.G., Alley, J.L., Serabjit-Singh, C.J., Philpot, R.M. 1983. Cytodifferentiation of nonciliated bronchiolar epithelial (Clara) cell during rabbit maturation: An ultrastructural and morphometric study. Am. J. Anat. 167:329-357.

(22) Becci, P.J., Mcowell, E.M., Trump, B. 1978. The respiratory epithelium. II. Hamster trachea, bronchus, and bronchioles. J. Natl. Cancer Inst. 61:551-561.

(23) Niden, A.H. 1967. Bronchiolar and large cellular cell in pulmonary phospholipid metabolism. Science 158:1323-1324.

(24) Smith, M.N., Greenberg, S.D., Spjut, H.J. 1979. The Clara cell: a comparative ultrastructural study in mammals. Am. J. Anat. 155:15-30.

(25) Rivero, S.O., Cano, V.F., Celis, B.M.E., Fortoul, V. T., Ponce, de León, M.H., Rohde, Einhaus, F. C., Kuthy, P.J. 1988. Neumología. Trillas.

(26) Boyd, M. R., Statham, C. N., Longo, N. S. 1980. The Pulmonary Clara Cell as a Target for Toxic Chemicals Requiring Metabolic Activation; Studies with Carbon Tetrachloride. The J. of Pharmacology and Exp. Therapeutics 212(1):109-114.

(27) Hornick, D.B. 1988. Pulmonary Host Defense: Defects That Lead to Chronic Inflammation of the Airway. Clinics in Chest. Medicine 9(4)december:669-678.

(28) Forkert, P.G., Troughton, K.M. 1987. Airway Injury by Trichloroethylene: a Scanning Electron Microscopic Study. J. of Pathology 152:119-125.

(29) Locke, J. 1979. The determination of eight elements in human liver tissue by flame atomic absorption spectrometry in sulfuric acid solution. Analytica Chim. Acta. 104:225-231.

(30) Laxen, P. H., Harrison, R. M. 1981. Cleaning methods for polyethylene containers prior the determination of trace metals in freshwater samples. Analytical Chem. 53:345-350.

(31) Rondán, A., Antuna, S., Aguilar, M. C. 1985. Manejo de fragmentos "grandes" para la obtención de cortes semifinos útiles para morfometría. VI Reunión Nacional de Anatomía, Soc. Mex. de Anatomía. Universidad Autónoma del Edo. de Morelos. Cuernavaca, Mor. Noviembre.

(32) Orrenius, S., Ericson, J., Ernster, L. 1965. Phenobarbital-induced synthesis of the microsomal drug-metabolizing enzyme system and its relationship to the proliferation of endoplasmic membranes. The J. of Cell Bio. 25:627-639.

(33) Higgins, J. A., Barrnett, R. J. 1972. Studies on the biogenesis of smooth endoplasmic reticulum membranes in livers of phenobarbital-treated rats. The J. of Cell Bio. 55:282-298.