

167
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Cloruro de cadmio inhalado y daño bronquiolar.
Estudio experimental agudo con
diferentes dosis en ratón.**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:**

IVONNE GRISEL SANCHEZ CERVANTES



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.



1994



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.

CIUDAD UNIVERSITARIA



FACULTAD DE CIENCIAS
División de Estudios
Profesionales
Exp. Núm. 55

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Universidad Nacional Autónoma de México.
P r e s e n t e .

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo
revisado el trabajo de tesis que realiz ó la pasante _____

IVONNE GRISEL SANCHEZ CERVANTES

con número de cuenta 8653043-8 con el título: _____

CLORURO DE CADMIO INHALADO Y DAÑO BRONQUIOLAR.

ESTUDIO EXPERIMENTAL AGUDO CON DIFERENTES DOSIS EN RATON.

Consideramos que reúne los méritos necesarios para que pueda conti-
nuar el trámite de su Examen Profesional para obtener el título de -
BIOLOGO.

GRADO NOMBRE Y APELLIDOS COMPLETOS

FIRMA

M. en C. Teresa Imelda Fortoul van der Goes

Director de Tesis

M. en C. Patricia Rivas Manzano

M. C. Silvia Antuna Bizarro

Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz

Suplente

Biol. Leticia Parra Gómez

Suplente

Ciudad Universitaria, D.F., a 12 de Agosto

de 1994

DEDICATORIAS

A ti amado esposo

que eres mi mejor aliado en los fracasos, triunfos y en los retos de la vida. A ti que desde siempre me apoyaste y me impulsaste en este camino. A ti que formas parte de mi vida y de mi mundo. Te amo

A mi Padre

que con su sabiduría, amor y ejemplo alcancé una de las cimas más altas en mi vida.

Gracias Papi

A mi Madre

por su compañía, apoyo incondicional, cariño y entusiasmo, dándome el aliento necesario para llegar hasta donde estoy.

Gracias Mami

A mis hermanos queridos

Lili, Xico y Andrea por tenerme siempre presente y estar cuando más los he necesitado.

A mis sobrinos Mariana y a Nico por existir en mi vida.

A mi familia materna que siempre ha estado a lado mío y siempre los recuerdo con cariño.

A mi suegra, a mis cuñadas y cuñados por estar siempre conmigo y preocuparse de mi bienestar.

A Tere Fortoul

por ocupar un lugar en mi vida muy especial, porque me ha dado todo lo posible en sus manos para que yo me realice como mujer y profesionalista.

A mis queridas amigas Irma y Sandra

porque la vida nos unió en el momento adecuado. Por su presencia en los buenos y en los malos momentos. Porque juntas hemos aprendido mucho y hemos logrado dar todo.

A Rosa Luz

por la chispa de alegría que llevas en tu corazón, no cambies.

AGRADECIMIENTOS

A las siguientes personas les agradezco de una manera muy especial todo el apoyo brindado para la realización de este trabajo:

Dra. Teresa Fortoul van der Goes

Dr. Alfonso Carabez Trejo

M. en C. Patricia Rivas Manzano

Dra. Maricela Villagran Santa Cruz

M.C. Silvia Antuna Bizarro

Biól. Leticia Parra Gámez

Dr. Adrian Rondán

Biól. Irma López Martínez

Biól. Sandra Moncada Hernández

Téc. Pedro Balderas.

Téc. Tomás Cruz Méndez

Tec. Francisco Gerardo Pasos Nájera

M. V. Z. Enrique Pinzón Estrada

M. V. Z. Ismael Torres Saldaña.

M. V. Z. Victor Manuel Salgado Alfaro

**Cloruro de cadmio
inhalado y daño
bronquiolar.**

**Estudio experimental
agudo con diferentes
dosis en ratón.**

ÍNDICE

RESUMEN.

1 INTRODUCCIÓN.

1.1	Origen de Contaminantes Ambientales y Contaminación Ambiental.	1
1.2	Típos de Contaminantes.	2
1.3	Partículas Suspendidas Totales.	3
1.4	Contaminación por metales pesados.	6
1.5	Características físico-químicas del Cadmio.	8
1.6	Contaminación por Cadmio en el Ambiente Ocupacional.	10
1.7	Fuentes de Contaminación por Cadmio en el Ambiente General.	11
1.7.1	Aire.	11
1.7.2	Agua.	11
1.7.3	Suelo.	12
1.7.4	Alimentos.	12
1.7.5	Tabaco.	12
1.8	Toxicología	13
1.8.1	Absorción, Distribución y Excreción.	14
1.8.2	Interacción con otras Substancias.	15
1.9	Efectos a la Salud.	15
1.9.1	Manifestaciones Agudas.	16
1.9.1. a	Inhalación.	16
1.9.1. b	Ingestión.	16
1.9.2	Manifestaciones Crónicas.	17
1.9.3	Manifestaciones Específicas.	17
1.9.3 a	Riñones.	17
1.9.3 b	Pulmones.	18
1.9.3 c	Aparato Gastrointestinal.	18
1.9.3 d	Sangre.	18
1.9.3 e	Aparato Cardiocircular.	18
1.9.3 f	Huesos.	19

1.9.3 g Efectos Carcinogénicos.	19
1.9.3 h Efectos Mutagénicos y Teratogénicos.	19
1.10 Pulmón.	20
1.10 a Porciones del Aparato Respiratorio.	21
1.10 b Bronquiolo.	24
1.10 c Célula de Clara.	24
1.10.1 Daño Bronquiolar.	26
2. HIPÓTESIS.	28
3. OBJETIVO GENERAL.	28
3.1 Objetivo Particular.	28
4. MATERIAL Y MÉTODO.	29
4.1 Microscopía de luz.	30
4.2 Microscopía Electrónica de Reflexión (Barrido).	30
4.3 Microscopía Electrónica de Transmisión.	31
4.4 Determinación del Tamaño de la Partícula.	31
5. RESULTADOS.	32
5.1 Microscopía de Luz.	32
5.2 Microscopía Electrónica de Reflexión (Barrido).	33
5.3 Microscopía Electrónica de Transmisión.	34
6. DISCUSIÓN.	36
7. CONCLUSIONES.	40
8. BIBLIOGRAFÍA.	41

RESUMEN

La contaminación atmosférica por otros metales que no sean plomo, no es conocida. Estudios realizados en pulmones de casos de autopsia de personas de la Cd. de México reportan niveles elevados de otros metales tales como el Cadmio (Cd). Este elemento se encuentra en el humo del tabaco y se relaciona tanto con la producción de enfisema como de fibrosis pulmonar y es tema de controversia su efecto carcinogénico.

El presente estudio analiza con un modelo experimental de inhalación en ratón, el efecto que causa el Cadmio a nivel de bronquiolo terminal. Se utilizaron 52 ratones macho CD-1 de 30 ± 2 g. de peso que inhalaban una solución de Cloruro de Cadmio al 0.012 M y al 0.006M durante 30 minutos tres veces a la semana por una semana. Se utilizaron 14 ratones como grupo control que inhalaban el vehículo solamente. Los animales se sacrificaron por dislocación cervical, inhalando los días 1 y 3 durante la fase inhalatoria (fase I) y en la etapa postinhalatoria que comenzó después de la última inhalación (fase II), estos fueron sacrificados a los días 1, 3, 5, 7, y 9. El material se procesó para su estudio con microscopía de luz, electrónica de transmisión y reflexión.

Los resultados obtenidos mostraron que los animales sometidos a mayor dosis presentaron alteraciones en células bronquiolares ciliadas y no ciliadas. El daño fue más severo con la dosis 0.012 M al primer día fase II, mediante las técnicas de microscopía utilizadas. En el caso de la microscopía electrónica de transmisión fue más evidente en cuanto a las alteraciones ultraestructurales encontradas, en mitocondria y retículo endoplásmico rugoso en general. Con la concentración de 0.006 M los cambios importantes se apreciaron a los tres días fase II (etapa postinhalatoria) a diferencia de la dosis de 0.012 M, en donde el daño se presentó con más rapidez con respecto al tiempo.

Aunque existe poca información en la literatura del daño que el Cadmio ocasiona al pulmón, no hay un análisis detallado de aquellas células que en especial se dañan. Sin embargo, en este estudio experimental se logró encontrar la presencia de alteraciones morfológicas en la célula de Clara como célula blanco ante la inhalación aguda de Cloruro de Cadmio. El bronquiolo sufre hipertrofia e hiperplasia a nivel de microscopía electrónica de barrido, por otro lado con microscopía electrónica de transmisión se observó hiperplasia de retículo endoplásmico rugoso y edema mitocondrial de la célula de Clara, todo esto como respuesta al daño ocasionado por Cloruro de Cadmio debido a su aparente sensibilidad a agentes xenobióticos.

1 INTRODUCCION.

1.1 Origen de Contaminantes ambientales.

Las fuentes contaminantes antropogénicas se clasifican en fijas, móviles y naturales. En el primer grupo se encuentran las industrias y actividades comerciales en general (ferreterías,refinerías, etc). Se calcula que del total de contaminantes atmosféricos, la industria es responsable del 20% (Suárez, 1991).

Las fuentes móviles más importantes de emisión de gases y partículas suspendidas en el aire del Valle de México son los vehículos (que corresponden al 75% de la contaminación) y las fuentes naturales que son aquellas que mediante procesos naturales aportan contaminantes al ambiente. Este es el caso de las áreas erosionadas cercanas a la Ciudad de México, las cuales en época de secas y por acción de los vientos llevan a la atmósfera grandes cantidades de polvo y partículas, produciendo el 5% del total de la contaminación (Suárez, 1991). La intensa insolación y sequedad del suelo, aunados a los procesos de erosión y desertificación al que son sometidas las planicies de la cuenca y que han conformado una fisicografía propicia para la formación de tolvaneras o tormentas de polvo que han ocasionado que el 40% de los días del año, las concentraciones de polvo en las áreas Norte y Oriente de la mancha urbana, lleguen a exceder hasta cinco veces la norma (275µg/m³) recomendada para la protección a la salud (Ramírez,1989).

Contaminación Ambiental.

El término contaminación atmosférica se aplica cuando el aire contiene una concentración excesiva de materia extraña que afecta el bienestar del hombre, o causa daño a la vida de las plantas o animales. Mediante este concepto se pretende señalar que es claro que en cualquier parte del mundo se encuentran en el aire sustancias naturales, ya sean gases orgánicos, esporas, pólenes, elementos producidos por la vegetación o partículas de sustancias y humos, resultados de incendios forestales, o polvo removido por el viento, pero que si bien potencialmente producen enfermedad respiratoria (Rivero,1988).

Desde hace mucho tiempo la humanidad ha modificado los ciclos globales de los elementos naturales esenciales para la vida. Estos ciclos involucran todos los sistemas biológicos de la tierra como son atmósfera, geósfera, hidrósfera y biósfera.

La producción de sustancias tóxicas generadas por la industria y por el desarrollo acelerado de la tecnología actual, representan un enorme problema de contaminación en el mundo.

1.2 Tipos de Contaminantes.

formados por reacciones químicas. Estos se puede clasificar en gases, partículas y en orgánicos e inorgánicos. Los seis contaminantes más estudiados según su origen se presentan en el cuadro número 1.

Los contaminantes atmosféricos se clasifican por su origen en primarios, los directamente emitidos por la fuente, y secundarios, los

CONTAMINANTES	ORIGEN
Dióxido de Azufre (SO ₂)	Actividad Industrial 97% Vehículos Automotores diesel 3%
Oxidos de Nitrógeno (NO _x)	Combustión de Vehículos Automotores 62% Industria 38%
Monóxido de Carbono (CO)	Combustión de Vehículos Automotores 98.5% Industria 31%
Hidrocarburos	Automóviles 69% Industrial 31%
Ozono (O ₃)	Contaminante secundario se forma en la atmósfera por interacción de óxidos de nitrógeno e hidrocarburos en presencia de radiación solar.
Partículas	Fuentes naturales 60%, debido a tolveneras y otros fenómenos (físicos o químicos).

Cuadro 1. Origen y tipos de contaminantes atmosféricos.

1.3 Partículas Suspensas Totales.

La forma química de las emisiones antropogénicas y la solubilidad de los componentes dependen de la presencia de los contaminantes en la atmósfera, de la solubilidad de los productos de la forma química individual, de la relación área-volumen-radio de las partículas, de la composición de la lluvia y de la presencia de la capa protectora. De este modo, las partículas menores de $5\ \mu\text{m}$ de diámetro son relativamente solubles, como son los nitratos, sulfatos y compuestos de amonio frecuentemente presentes en las emisiones producto de la combustión. La mezcla de contaminantes es inyectada continuamente a la atmósfera a través de diversas fuentes, estos contaminantes son distribuidos sobre la superficie terrestre (Livett, 1992). Las partículas suspendidas son pequeños núcleos de polvo, agua, metales, silicatos, óxidos de azufre y nitrógeno que se encuentran suspendidos en la atmósfera durante horas, días e incluso meses (Burgos, 1986). Desde el punto de vista de la salud, el porcentaje de la fracción respirable más importante es la de las partículas con un diámetro entre 10 y $6\ \mu\text{m}$ que quedan atrapadas en la cavidad nasofaríngea y partículas de menos de $5\ \mu\text{m}$ que pueden penetrar hasta el alveolo (Wanner, 1993).

Las partículas suspendidas más pequeñas son importantes en relación con la salud, no sólo porque permanecen en la atmósfera durante más tiempo que las partículas grandes, sino también porque algunas son lo suficientemente pequeñas para ser inhaladas y penetrar profundamente en las vías respiratorias. De acuerdo al tamaño estas se clasifican en: partículas de fracción gruesa (2.5 a $100\ \mu\text{m}$) y fracción fina ($<2.5\ \mu\text{m}$), y ambos tipos presentan composiciones distintas. Existen dos mecanismos que determinan el tamaño: las de fracción fina provienen de procesos físicoquímicos, y las de fracción gruesa, son el resultado de procesos mecánicos, de combustión y otros procesos de tipo físico (Bravo, et al, 1989). La composición química de las partículas suspendidas varía de acuerdo a las características de la población, actividad urbana e industrial, características geográficas y del suelo, siendo difícil generalizar una composición típica. En forma aproximada, las partículas en el rango de 0.1 a $10\ \mu\text{m}$ son producto de la combustión (gasolina, cigarro) y de aerosoles fotoquímicos (smog), incluyendo las partículas suspendidas provenientes de suelos, polvos emitidos por industrias como cementeras, fundiciones, hornos industriales y quema de basura, entre otros; y las partículas

mayores de 10 μm frecuentemente son el resultado de procesos físicos, como son las tolvaneras y polvos de construcción, que por su tamaño, rápidamente se sedimentan permaneciendo poco tiempo suspendidas en el aire (Bravo, et al, 1989)

La caracterización de partículas suspendidas en el aire ambiental puede realizarse con base en la cantidad total de partículas o a la fracción respirable, que es de 0-15 μm de diámetro (Bravo op.cit.). Debido a que el grado de penetración y retención de partículas en el sistema respiratorio es una función directa del tamaño aerodinámico (fig 1 a) de las mismas, es necesario conocer la distribución del tamaño del total de las partículas suspendidas y la fracción respirable ya que pueden tener efectos directos en la salud. La tabla 1 muestra el porcentaje de partículas respirables en función de su tamaño.

Se estima que en el área Metropolitana de la Ciudad de México se localizan cerca de 15,000 establecimientos industriales, con más de 2.5 millones de vehículos automotores circulando, que en conjunto emiten más de 150,000 ton/año de partículas a la atmósfera, y características físicas y químicas muy variadas. Estas partículas (polvos, humos, aerosoles y otros) tienen un efecto directo en la calidad del aire de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM), la cual, junto con la meteorología propia del área, da como resultado fluctuaciones en las distintas estaciones del año. (Bravo, et al, 1989).

TAMAÑO EN MICROMETROS (μm), PARTICULAS DE DENSIDAD UNITARIA	PORCENTAJE RESPIRABLE
10	0
5	25
3.5	50
2.5	75
2	100

TABLA 1. Porcentaje respirable de varios tamaños de partículas (BRAVO, 1989).

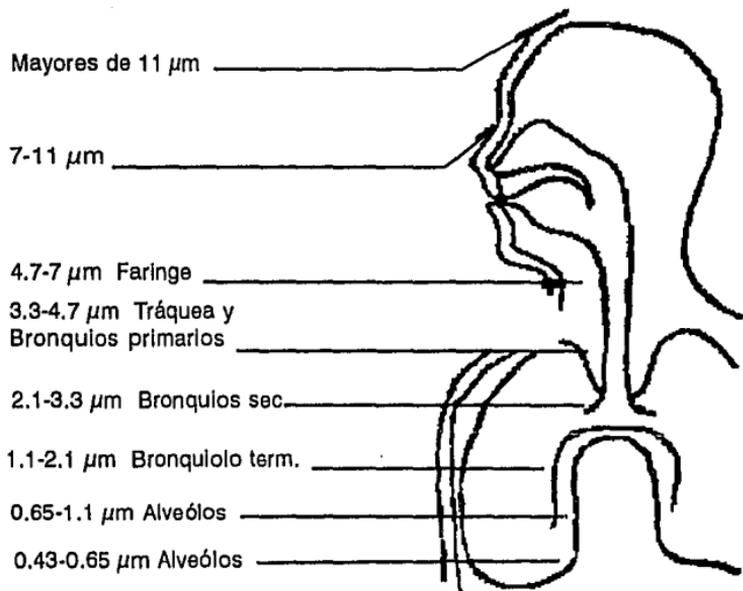


Figura 1a. Sistema Respiratorio humano y rangos de penetración de partículas.

1.4 Contaminación por Metales Pesados.

Dentro de los elementos químicos descubiertos por el hombre encontramos que muchos de éstos forman parte, como elementos traza, de los sistemas biológicos en forma de compuestos orgánicos e inorgánicos. Como elementos esenciales son requeridos en muchos de los procesos químicos. El hombre necesita mínimo 10 de estos elementos; tal es el caso del cobre, el zinc, el magnesio, el cobalto y el hierro, los cuales intervienen en muchos procesos metabólicos; otros como el sodio, el manganeso, el potasio y el calcio son requeridos en muchas de las funciones en donde se presenta un intercambio iónico como por ejemplo transporte de impulso nervioso, movimiento muscular, intercambio gaseoso (Campos H, 1987). Existe otro grupo de elementos, el de los metales pesados, que es una de las formas más peligrosas de contaminantes del medio ambiente. Esto se explica primero, porque no presentan ningún tipo posible de degradación biológica o química, como ocurre en el caso de la contaminación por compuestos orgánicos y por otro lado, los metales pesados son bioacumulados en diversas formas (inorgánica o como compuestos orgánicos) y permanen en los organismos por largos periodos (Campos H., op. cit.). Los metales pesados, como el cobre, el plomo, el mercurio, etc., se caracterizan por su alta conductividad eléctrica, por tener una densidad mayor a 6.0 g-cm⁻³ y a medida que se desplazan hacia los metales preciosos (oro, mercurio y plata) sus óxidos metálicos se hacen más estables que los hidróxidos correspondientes; además forman complejos con diferentes iones y moléculas. Su toxicidad es debida a su alta afinidad con los grupos amino y sulfhidrilo. Al reaccionar, los metales pesados con estos grupos, se forman complejos metálicos y las enzimas pierden toda su efectividad para controlar las reacciones metabólicas (Campos H, op cit). Hay sustancias que por su persistencia, toxicidad o facilidad de ser bioacumuladas son tan peligrosas, que no pueden ser introducidas en ningún sistema, o bien, requieren de la toma de medidas de emergencia cuando se detectan en los ecosistemas. Dentro de estas se incluyen los compuestos organoclorados, halogenados y compuestos que al ser introducidos al medio puedan formar cualquier otro derivado halogenado; también se incluyen sustancias que contienen mercurio y cadmio y por último petróleo y cualquiera de sus compuestos derivados de alta estabilidad (Campos H., op. cit.) La

contaminación atmosférica provocada por metales pesados ha ido en aumento debido a la actividad humana. Las actividades industriales y urbanas generan metales pesados en forma de partículas y gases. Estos metales son distribuidos eficientemente a nivel local, regional y global; una parte muy significativa de la atmósfera posee metales pesados, contribuyendo así a la contaminación atmosférica. Los niveles de metales pesados en el ambiente, para el futuro, no sólo dependen del control, de la eficiencia del uso de combustibles fósiles y de las reservas minerales, sino también de la carga residual de metales en los depósitos globales (Livett, 1992). Lo anterior repercute el ambiente natural y por lo tanto en el hombre.

Se ha reportado poco sobre los efectos que causan los metales pesados a la salud. Estos efectos provienen de dos grandes vías de exposición :1) Transporte de contaminantes en el ambiente por el agua, suelos y comida, generados por las actividades antropogénicas y 2) Alteración de las formas químicas o bioquímicas de los elementos (Amdur et.al., 1991).

La atmósfera es un sistema global en el cual se incluyen ciclos de elementos químicos, estos ciclos pasan a través de reservorios como agua, aire y organismos; los cuales pueden llegar a acumularse en los suelos y sedimentos (Livett, 1992).

La fuente inmediata de contaminación es en gran parte producida por la atmósfera, ya que representa una carga de elementos traza en la geósfera, todo esto ocurre cuando los metales son liberados por los procesos de fragmentación, volatilización, o combustión. Las cantidades estimadas de metales liberados por estos procesos de emisión y sus formas son conocidas, sin embargo, se desconoce la concentración inicial del metal desde su origen antropogénico, su relativa volatilidad, la temperatura y la eficiencia de la combustión del metal, la presencia y tipo de aparatos usados para manejar el metal y la cantidad total de material procesado (Livett , 1992).

Se sabe que los elementos son distribuidos naturalmente en el ambiente por medio de dos ciclos: el biológico y geológico . Existe una lluvia que contiene pequeñas cantidades de material mineral disuelto, que es producido por rocas y minas, este material mineral puede ser transportado por mecanismos físicos contribuyendo al aumento de metales pesado en el ambiente; estos pueden ser depositados en los sedimentos de ríos y desembocar hacia el mar, para posteriormente formar parte de las precipitaciones pluviales e iniciar nuevamente el ciclo. En los ciclos biológicos

existe una bioconcentración de metales en plantas y animales formando parte del ciclo alimenticio, y da como consecuencia una fuente más de contaminación (Livett, 1992).

Como ocurre con la lluvia ácida, la variación del pH provoca el aumento de su solubilidad, movilización y quizá cambia las especies químicas de muchos metales (Amdur, 1991). La contaminación ambiental es uno de los problemas que ponen en peligro la supervivencia de la humanidad. Numerosos elementos químicos como el As, Cd, Pb, Cu, Se, Zn, Hg, Sn tienen un papel relevante en la contaminación. Estos elementos pueden ser encontrados como contaminantes del agua (Espinosa, 1989).

Uno de los metales pesados de interés, es el cadmio, ya que causa efectos en la salud muy importantes como se ha reportado en algunos trabajos (Semon, 1991; Hallenbeck, 1993 y Landsberger, 1993). Se ha estudiado poco en cuanto a los efectos que causa este metal en el aparato respiratorio. Por otro lado no se tiene reportado en la ciudad de México ningún monitoreo de este metal en el aire. El problema de salud que causa este metal por cualquier vía de exposición es de sumo interés, ya que cualquier tipo de sustancia xenobiótica que ingrese al organismo produce daño en algún órgano. Por eso es importante conocer las características generales del cadmio así como los efectos que causa en la salud.

1.5 Características Físicoquímicas del Cadmio.

El cadmio tiene un peso molecular de 112.41g. Es obtenido de o por explotación minera. Entre sus características físico-químicas es un metal: dúctil, maleable, de color blanco plateado, es altamente lustre y resistente a la corrosión, su densidad es de 8.65-20° y se funde a 320.9°C. El vapor de cadmio es cerca de 3.88 veces más pesado que el aire. El cadmio puede ser quemado con una flama brillante emitiendo humo café del óxido, es únicamente volátil a 70°C pero se descompone a 1000°C. Las aleaciones de cadmio son usadas como conductores eléctricos y soldaduras (Tsalev, 1984). En el cuadro número 2 se presentan las características físicoquímicas del cadmio y del cloruro de cadmio.

	CADMIO	CLORURO DE CADMIO
NOMBRE		
SINONIMOS	POLVO DE CADMIO	DICLORURO DE CADMIO
FORMULA QUIMICA	Cd	CdCl ₂
PESO MOLECULAR	112.41	183.30
PUNTO FUSION	321	568
PUNTO EBULLICION	765	960
SOLUBILIDAD	NH ₄ NO ₃	AGUA Y METANOL
INFLAMABILIDAD	ESPONTANEAMENTE EN EL AIRE	NO
ASPECTO FISICO	SOLIDO AZUL BLANQUECINO, LUSTROSO, MALEABLE	CRISTALES BLANCOS
INCOMPATIBILIDAD	OXIDANTES FUERTES, SELENIO, TELURIO	OXIDANTES FUERTES, SELENIO, TELURIO
DL ₅₀	RATA ORAL: 225 mg/ kg	EXPOSICION; PELIGROSA 40 mg/m ³
VIAS DE INGRESO	RESPIRATORIA DIGESTIVA	IDEM
EFFECTOS EN	SISTEMA RESPIRATORIO Y CARDIOVASCULAR. OJOS, PIEL, RIONES E HIGADO	IDEM
INCOMPATIBILIDAD	CADMIO EN ORINA Y SANGRE, PROTEINAS EN ORINA	IDEM

Cuadro 2. Características de cadmio elemento y cloruro de cadmio (Galvao y Corey, 1987)

1.6 Contaminación por Cadmio en el Ambiente Ocupacional.

Al hablar de fuentes de contaminación en el ambiente ocupacional es importante señalar que en el caso de cadmio éstas son también responsables, en gran medida, de la contaminación del ambiente en general.

Las actividades mineras, tanto para el cadmio como para otros metales, son la fuente más evidente y las que pueden causar las concentraciones más altas del cadmio, ya que este metal se encuentra frecuentemente incorporado en diversos minerales. La exposición no sólo es importante para los mineros, sino también para otros individuos no mineros que trabajen en las mismas instalaciones o cerca de ellas.

Industria.

El cadmio está presente en las actividades industriales, ya sea como componente de la materia prima, como es el caso de las industrias de baterías y colorantes, o como parte de los sub-productos del proceso, como es el caso de la obtención del zinc. En los casos en los que está presente como materia prima, el cadmio puede generar concentraciones ambientales muy elevadas. Las industrias que han presentado mayor riesgo, por la presencia del cadmio, según su rama o tipo, son las siguientes:

- Baterías y acumuladores
- Cables eléctricos
- Células fotoeléctricas
- Cloruro de polivinilo
- Colorantes de cadmio
- Equipos para ruedas
- Equipos nucleares
- Fusibles
- Joyería
- Laminados a vapor
- Soldadura
- Tapones de extinguidores
- Zinc

1.7 Fuentes de Contaminación por Cadmio en el Ambiente General.

Las fuentes de contaminación del ambiente exterior no ocupacional, especialmente en ciudades, son habitualmente las actividades industriales y las actividades mineras. Otras fuentes importantes de contaminación del ambiente general son la incineración de materiales de residuos, la combustión de carburantes fósiles y el uso de fertilizantes fosfatados. El cadmio y sus compuestos emitidos por las fuentes señaladas se distribuyen y se presentan de modo diferente según las características de los medios que se señalan a continuación (Galvao, 1987).

1.7.1 Aire

La forma química más importante en que el cadmio se presenta en el aire es como óxido de cadmio. En las grandes ciudades en donde hay actividades industriales importantes, se han encontrado concentraciones elevadas del cadmio en el aire de 0.05 a 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en oposición a otras áreas no contaminadas en donde existen niveles de 0.001 a 0.005 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (rurales) y 0.005 hasta 0.05 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (urbanas). La presencia de cadmio en el aire adquiere interés cuando se piensa en los efectos de este contaminante para la salud humana, ya que puede penetrar al organismo por la vía respiratoria y ser absorbido. En áreas muy contaminadas un individuo puede llegar a inhalar hasta 3.5 μg de cadmio al día (Galvao, 1987).

1.7.2 Agua

El agua en áreas no contaminadas presenta concentraciones muy bajas de cadmio: 0.004-0.3 $\mu\text{g}/\text{l}$ en océanos y alrededor de 1 $\mu\text{g}/\text{l}$ en ríos. En las regiones donde hay contaminación por cadmio estas concentraciones se pueden elevar mucho; así se han encontrado niveles de 0.001 hasta 0.115 $\mu\text{g}/\text{l}$.

La importancia de estas concentraciones en el agua varía según la utilización que a ésta el hombre le dé.

1.7.3 Suelo

En áreas no contaminadas el cadmio se encuentra en el suelo en alrededor de 1 mg/kg (1ppm). La contaminación del suelo por depósito de partículas del aire o por agua contaminada por actividades industriales, ha determinado concentraciones de hasta 16 mg/kg.

1.7.4 Alimentos

Los alimentos representan la fuente de exposición más importante para los individuos de la población general no ocupacionalmente expuestos. La cantidad de cadmio ingerida a través de la alimentación varía mucho. Las determinaciones hechas en algunos países, demostraron que la ingesta de cadmio puede ser de 10-60 $\mu\text{g}/\text{día}$ para una persona de 70 kg. En algunas partes se han encontrado casos con ingestión hasta de 150 $\mu\text{g}/\text{día}$. Entre el 90% y el 95% del cadmio ingerido es eliminado por las heces, lo que hace que la importancia de la ingestión de cadmio solamente sea significativa cuando existe un alto índice de contaminación ambiental, lo cual repercute en las concentraciones de cadmio en los alimentos (Galvao, 1987).

1.7.5 Tabaco

Cada cigarro contiene alrededor de 1-2 μg de cadmio. Parte de esto se elimina con la combustión, pero se inhala de 0.1 a 0.2 $\mu\text{g}/\text{cigarrillo}$, lo que puede causar acumulación de 12 mg de cadmio en el organismo al cabo de 20 años de haber fumado 20 cigarrillos diarios (Galvao, 1987). El Cadmio es un metal altamente tóxico para el ser humano aún en concentraciones pequeñas.

La exposición al cadmio en los humanos es generalmente mediante dos fuentes de contaminación, en la población no fumadora y ocupacionalmente no expuesta. La primera vía es la oral por agua e ingestión de alimentos, representando el 5 al 10% del total del cadmio absorbido por el cuerpo. Estas concentraciones dependen de la ingestión de proteínas y la presencia de vitamina D, incluso se relaciona con la concentración de algunos elementos en el organismo tales como Zn, Se y Ca con los cuales el cadmio compite (Fassett, 1975; Heyroth, 1949). La segunda vía por la cual el ser humano esta expuesto al Cadmio es por inhalación. La cantidad del cadmio inhalado depende de la concentración del metal en el aire, de la retención de partículas en los pulmones, del componente químico inhalado, de las condiciones fisiológicas del sistema respiratorio y, en el caso de los fumadores la severidad del hábito (Tsalev y Zaprianov, 1984). Por esta ruta del 15 al 20% del Cadmio es absorbido hacia la sangre (Fortoul, 1984). Uno de los muchos efectos adversos al fumar tabaco es un incremento a la exposición de cadmio, y las concentraciones varían desde 1.56 a 1.96 μg por cigarrillo y 0.93 a 1.86 μg en puros; para estas concentraciones del 7 al 10% corresponde principalmente al humo inhalado en los fumadores, y el 38 al 50% restante corresponde al humo no inhalado de los fumadores.

Alteraciones importantes, tales como el asma, la otitis y el cáncer pulmonar se ha reportado en personas, en su mayoría niños que viven en contacto directo con fumadores. Los fumadores pueden absorber cantidades comparables a un consumo de 0.1 μg de Cadmio por cigarro con 50% de absorción (Saldivar, 1990).

1.8 Toxicología.

Se cree que en los procesos de absorción y de transporte en la sangre el cadmio tiene un efecto bioquímico importante. El cadmio dentro del organismo se une a una proteína de bajo peso molecular llamada metalotioneina (que es un grupo de proteínas transportadoras de metales como Cd y Zn), lo cual acelera su eliminación por los riñones y puede contrarrestar su toxicidad (Galvao, 1987).

Al hablar de la vía de exposición al cadmio, los efectos de éste son mayores al ser administrado por vía pulmonar (inhalaado) que al ser administrado por otras vías como la oral o parenteral. Al variar la vía de administración del Cadmio varía la magnitud de un mismo efecto. (Espinosa, 1989).

1.8.1 Absorción, distribución y excreción del Cadmio.

El Cadmio ingresa al organismo por inhalación o ingestión. El ingreso por la piel no esta comprobado y, además, no hay descripción de casos en los que éste tenga importancia (Galvao, 1987).

El tamaño y la solubilidad de las partículas inhaladas, determinan la concentración y la posibilidad de difusión del Cadmio de los pulmones hacia la sangre. Después del depósito del cadmio en la nasofaringe, la tráquea, los bronquios y los alveolos, parte de las partículas inhaladas ascienden por acción de los cilios, pasan al esófago y se absorben parcialmente en el tracto gastrointestinal (Galvao, op cit).

Las partículas restantes que llegan hasta los alveolos, son absorbidas y pasan a la sangre. La absorción tiene que ver con la solubilidad del compuesto inhalado; las variaciones fisiológicas y anatómicas de los individuos también influyen en este proceso. Se estima que se absorbe del 10 al 40% de las partículas inhaladas. Las partículas que no son absorbidas, digeridas o eliminadas en las secreciones, van a constituir los depósitos de cadmio en el árbol respiratorio.

En personas normales, sólo del 5 al 7% del Cadmio ingerido es absorbido por vía gastrointestinal. En anémicos este porcentaje puede llegar a 20%. Cuando las cantidades ingeridas con los alimentos o el agua son elevadas, pueden causar intoxicación a mediano o largo plazo. Prácticamente, nada se conoce sobre las formas químicas del Cadmio presente en los alimentos, lo que impide conocer los mecanismos de absorción intestinal (Galvao, 1987).

El Cadmio absorbido es transportado por la sangre a diversos órganos y tejidos, principalmente a riñon e hígado. En el organismo, 50% del Cadmio absorbido se encuentra en estos órganos. Otros órganos que acumulan Cadmio

son los músculos, el páncreas, las glándulas salivales y en menor cantidad el sistema nervioso central. El Cadmio atraviesa la barrera placentaria, pero en mucho menor grado comparado con otros metales tales como mercurio y plomo. La placenta hace más bien de depósito del Cadmio, la cual, al ser saturada por éste permite el paso transplacentario del metal (Galvao, op cit).

La eliminación del Cadmio acumulado en el organismo se hace principalmente a través de la orina y por las heces. La vida media del Cadmio en el organismo es muy larga y se estima entre 10 y 30 años, periodo en el cual permanece almacenado en varios órganos.

Se cree que en los procesos de absorción y de transporte del Cadmio en la sangre tiene una participación importante una proteína (como ya se mencionó) de bajo peso molecular, llamada metalotioneína, a la cual se une Cadmio.

Es posible encontrar Cadmio en la leche materna de mujeres no expuestas ocupacionalmente; 35 µg por litro en los primeros días después del parto hasta valores que varían de 0.1 µg por litro para el periodo de hasta seis meses postparto (Galvao, op cit)

1.8.2 Interacción con otras sustancias.

Las deficiencias de hierro, zinc, calcio y proteínas en el organismo facilitan una mayor absorción intestinal del Cadmio.

En experimentación animal, se ha verificado que la administración simultánea de otros metales con Cadmio tiene efectos preventivos de las lesiones causadas por éste. El zinc, el cobalto y el selenio han prevenido la necrosis testicular en ratones. El zinc ha demostrado un papel protector en los cuadros de hipertensión arterial en ratones (Galvao, 1987).

1.9 Efectos a la Salud.

Las manifestaciones clínicas de la intoxicación con este metal pueden ser agudas o crónicas, y generalmente de carácter sistémico.

Las intoxicaciones que se pueden presentar en la población general, salvo situaciones accidentales o contaminaciones masivas, por ejemplo de alimentos, suelen en general ser de carácter crónico. En la población ocupacionalmente expuesta, es frecuente encontrar tanto intoxicaciones agudas como crónicas muy características. La clínica de las intoxicaciones por Cadmio es variable, según su vía de penetración, la cantidad absorbida, el tiempo de exposición y las características propias del individuo expuesto. Además, tiene relación con el tipo de exposición, ocupacional o ambiental.

1.9.1 Manifestaciones agudas.

1.9.1. a Inhalación.

La inhalación de altas cantidades de este metal puede determinar la aparición de síntomas no muy bien definidos al principio, pero luego se presenta fiebre, alteraciones digestivas, dolor torácico, disnea y edema agudo de pulmón, mismo que puede determinar la muerte por insuficiencia respiratoria. Puede también aparecer anemia, albuminuria, hepatitis y anuria; todas estas pueden determinar la muerte por necrosis hepática (Galvao, 1987).

1.9.1. b Ingestión.

Los síntomas son náuseas, vómitos, dolor abdominal y cefalea. En muchos casos hay diarrea intensa con colapso. Estos síntomas aparecen con la presencia del Cadmio en agua o en los alimentos en concentraciones de alrededor de 15 ppm (Galvao, op cit).

1.9.2 Manifestaciones crónicas.

La inhalación prolongada del Cadmio por trabajadores expuestos puede determinar la aparición de un síndrome que incluye enfisema pulmonar y lesión de los túbulos renales con proteinuria. En estos casos se han observado también otros efectos como anemia, alteraciones hepáticas y cambios en el metabolismo de los minerales. La ingestión prolongada del Cadmio, aunque no es muy frecuente, se puede presentar en la población general. El ejemplo más conocido es el de Japón, donde se observó enfermedad ósea (enfermedad itai-itai), con problemas gastrointestinales, anemia, daño renal y trastornos hepáticos (Galvao, op cit).

1.9.3 Manifestaciones específicas.

Tanto la inhalación como la ingestión del Cadmio han sido causa de variados daños al organismo, entre los cuales tenemos:

1.9.3.a Riñones.

Uno de los efectos más típicos y precoces de la larga exposición al Cadmio es el daño que sufre la función renal. La reabsorción en los túbulos renales proximales está afectada y se manifiesta con una intensa proteinuria tubular, que puede resultar en una excreción de proteínas 10 veces superior a lo normal para proteínas totales y hasta 1000 veces para las de bajo peso molecular, como la beta-2-microglobulina. Otras alteraciones descritas son el aumento de la creatinina y urea en el plasma y la alteración de algunas pruebas funcionales renales (inulina, ácido úrico, reabsorción de fósforo y calcio y prueba de concentración de la orina). Estos daños y las alteraciones observadas pueden llevar a un cuadro grave con insuficiencia renal (Galvao, 1987).

1.9.3.b Pulmones.

Los pulmones son considerados órganos críticos en la exposición al polvo de Cadmio. Se han publicado casos de neumonitis química, con disnea, tos, expectoración, molestias torácicas y disfunción pulmonar. Concentraciones de Cadmio de más de 5 mg/m³ de aire, durante ocho horas, pueden causar edema pulmonar tardío mortal. Otras alteraciones crónicas pulmonares son el enfisema, la bronquitis crónica y la fibrosis pulmonar.

1.9.3.c Aparato Gastrointestinal.

La administración oral de 10 mg de cadmio puede originar trastornos gastroduodenales con náusea y vómito como respuesta inmediata, aunque la dosis oral aguda con efectos mortales para un adulto es superior a 350 mg. Se han descrito alteraciones en las actividades enzimáticas del hígado (Galva, op cit)

1.9.3.d Sangre.

Aparentemente el cadmio no tiene efecto directo en la hematopoyesis. Más bien parece tener efecto de interferencia en la absorción del hierro de los alimentos. Estos efectos se manifiestan principalmente por una disminución de los niveles de hemoglobina que son reversibles.

1.9.3.e Aparato Cardiocirculatorio.

Se han observado tasas elevadas de hipertensión arterial en regiones en donde el índice de contaminación por cadmio es alto, aun cuando no se ha podido precisar todavía si en esas comunidades el cadmio es uno de los agentes causales de la hipertensión. Estudios hechos en trabajadores y en población general expuestos prolongadamente al cadmio, han demostrado asociaciones estadísticamente significativas entre el tiempo de exposición y el desarrollo de hipertensión

arterial. No obstante, no se dispone de una decisión concluyente al respecto y el tema es aún motivo de controversia (Galvao, 1987).

1.9.3.f Huesos.

En la enfermedad itai-itai se han comprobado, además de las lesiones renales, osteomalacia y grados variables de osteoporosis. Estas lesiones ocasionan dolores de intensidad variable, observándose que pequeños traumatismos son capaces de producir fracturas en varias partes del esqueleto. El mecanismo por el cual se producen estas no está del todo esclarecido, pero se supone que se debe a trastornos del metabolismo del calcio, fósforo y vitamina D, originados por las lesiones renales y acompañados de una baja ingestión de calcio y proteínas (Galvao, op cit).

1.9.3. g Efectos Carcinogénicos.

Se ha atribuido al cadmio un incremento en la incidencia del cáncer de próstata y del aparato respiratorio en trabajadores expuestos crónicamente al metal en forma de óxido de cadmio principalmente (Galvao, op cit).

1.9.3. h Efectos Mutagénicos y Teratogénicos.

Se han descrito alteraciones cromosómicas en estudios experimentales y en observaciones de personas expuestas prolongadamente al cadmio. No se han descrito hasta ahora alteraciones teratogénicas en los hijos de personas expuestas (Galvao, 1987).

El desarrollo de tecnologías que no toman en cuenta la protección del medio ambiente ni la salud humana (con un consecuente aumento en el número de industrias contaminantes) ha ocasionado un incremento en la concentración de elementos potencialmente tóxicos en el medio ambiente. La probabilidad de exposición de los seres humanos y animales en general es por lo tanto mayor. El problema de la contaminación es mayor en los países subdesarrollados, en los que hay una tendencia al empeoramiento en las condiciones ambientales,

debido a la utilización de tecnologías obsoletas y a una tardanza en la aplicación de medidas de protección al ambiente. Este es el caso de México (Espinosa, 1989). Debido que a la contaminación ambiental por metales no se le ha dado la importancia que requiere, en 1990 se llevó a cabo un estudio en pulmón de casos de autopsias de personas de la ciudad de México, el cual mostró que existen concentraciones elevadas de cadmio en el tejido pulmonar que se han incrementado en los últimos 30 años (Fortoul, 1994) .

Estados Unidos de América se ha hecho especial énfasis en el uso de indicadores biológicos de toxicidad tales como las enzimas reguladoras oxidadas por cadmio, disfunción renal por la exposición a cadmio y efectos neurológicos por la toxicidad con mercurio; sirviendo como una guía para la prevención o alguna intervención terapéutica (Amdur, 1991).

Debido a que el sistema respiratorio es la vía de exposición más accesible a los contaminantes atmosféricos, tales como los metales pesados (cadmio y plomo) se ha pensado en realizar un estudio que involucre el daño que puede ocasionar en este caso el cadmio al pulmón, ya que se reporta que este órgano es blanco para la exposición al cadmio. En otras palabras el pulmón puede servir como un monitor biológico para hacer un seguimiento de las alteraciones morfológicas, que en este órgano produzcan los metales pesados. Es preciso hacer una descripción de la histología pulmonar, para poder comprender los daños ocasionados por la inhalación de cadmio en ratón.

1.10 Pulmón.

Sistema respiratorio

Todos los animales superiores necesitan oxígeno para mantener sus procesos metabólicos. El sistema respiratorio sirve para captar el oxígeno del aire inspirado y para la eliminación del dióxido de carbono producido en el metabolismo celular del organismo. El oxígeno es llevado hacia las células y el dióxido de carbono es transportado de ellas por el sistema circulatorio a otros órganos. Puede imaginarse al sistema respiratorio como constituido por una porción conductora proximal, que conecta con el exterior del cuerpo, y por una porción respiratoria distal donde tiene lugar el intercambio entre la sangre y el

aire. En mamíferos la porción conductora incluye las vías existentes en la nariz, la faringe, la laringe, la tráquea y un sistema ramificado de bronquios de calibre cada vez más pequeño. Las ramas más pequeñas, los bronquiolos, se continúan con la porción respiratoria de los pulmones. Esta formada por los bronquiolos respiratorios, los conductos alveolares y los alveolos, que juntos constituyen la mayor parte del volumen pulmonar (Fawcett, 1988). Los pulmones se encuentran bien protegidos dentro de la caja torácica, una estructura expansible semejante a una caja, cuyas paredes están formadas por las costillas, los cartílagos costales, el esternón y el diafragma en forma de cúpula forma el piso (fig.2a). Cada pulmón está invaginado en su propia cavidad pleural, la cual se reduce a un espacio virtual. Esta cavidad está revestida por una membrana serosa con epitelio escamoso simple, la cual aunada a su capa subserosa subyacente de tejido conectivo fibroelástico denso constituyen una capa de revestimiento conocida como la pleura. En el hilio del pulmón, el cual es el sitio donde entran o salen los vasos sanguíneos mayores, los conductos respiratorios, los linfáticos y los nervios, la pleura parietal que reviste las paredes de la cavidad se continúa con la pleura visceral que cubre el pulmón (fig.2a). La fricción entre las dos membranas serosas adosadas se reduce al mínimo durante los movimientos de la respiración mediante la presencia de una película delgada de líquido tisular en el estrecho espacio entre ellas. Durante la inspiración, la contracción del diafragma, acompañada de un movimiento expansivo de las costillas, aumenta la capacidad de la caja torácica lo suficiente como para introducir un nuevo aporte de aire hacia los pulmones. Al mismo tiempo esta acción imprime tensión elástica creciente sobre la pleura visceral y dilata completamente el árbol traqueobronquial y los componentes finos del tejido respiratorio pulmonar, todos los cuales están provistos con abundante elastina. El retroceso pasivo subsecuente de esta elastina estirada es el factor principal para la expulsión del aire al regresar la caja torácica a sus dimensiones anteriores durante la espiración (Cormack, 1986)

1.10.a Porciones del Aparato Respiratorio.

Porción Conductora

*Cavidad Nasal

cometes nasales
áreas olfatorias
*Nasofaringe
amígdala faríngea
*Laringe
epiglotis
*Tráquea
*Bronquios
extrapulmonares (primarios)
intrapulmonares (secundarios y terciarios)
Cubierta Pulmonar

Porción respiratoria

Bronquios respiratorios
Conductos alveolares
Sacos alveolares
Alveolos
Pleura Visceral

Cuadro 2. Porciones del aparato respiratorio.

Parte conductora del tracto respiratorio

La vía aérea conductora del aparato respiratorio es un sistema ramificado que comienza en la tráquea y continúa a lo largo de 16 generaciones de ramificaciones dicotómicas, para terminar en los bronquiolos terminales. Este patrón de ramificación redonda en una disminución progresiva del diámetro de los canales, y un aumento concomitante de su número y del área transversal total del sistema. Es habitual referirse a las ramas distales a la tráquea con los nombres de bronquios, bronquiolos y bronquiolos terminales, pero habría que recordar que hay varias generaciones de ramificaciones dentro de las dos primeras categorías, de tal manera que a nivel de los bronquiolos terminales el número de ramas ha alcanzado la cifra de 65000, cada una con un diámetro de aproximadamente 0.2mm. Los conductos de todo el árbol

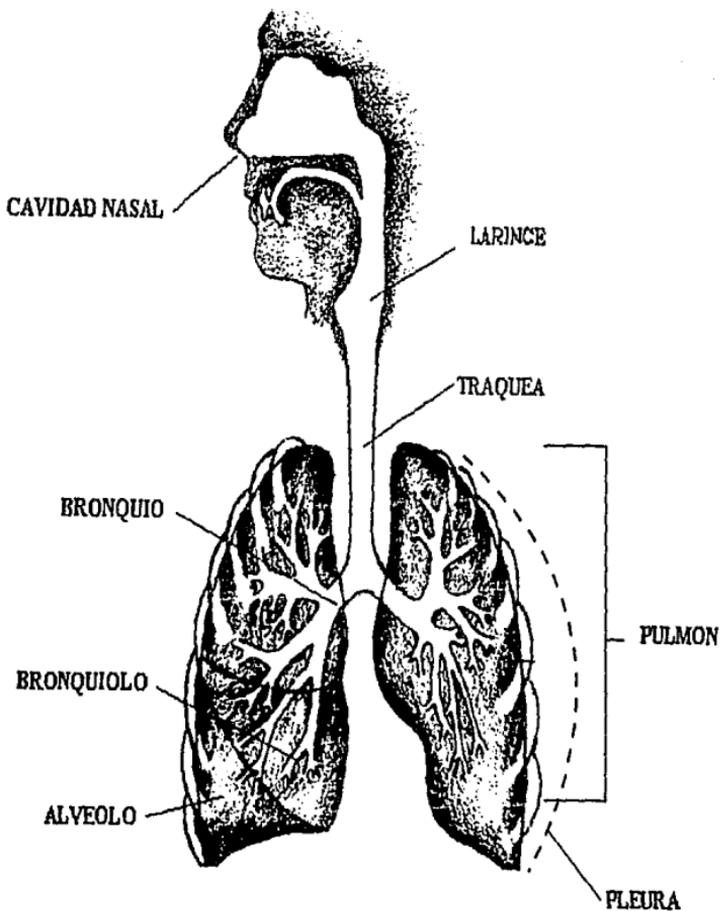


Figura 2a. Esquema de las partes del aparato respiratorio.

Fuente: Rívero 1988.

bronquial sirven simplemente para conducir el aire inspirado y espirado hacia y desde la porción respiratoria del pulmón, donde tiene lugar el intercambio gaseoso con la sangre (Fawcett, 1988).

1.10.b Bronquiolo.

Los bronquiolos están revestidos por un epitelio simple en vez de pseudoestratificado. En los de mayor calibre, el epitelio es cilíndrico simple ciliado, en tanto que en los más finos, es epitelio cúbico simple no ciliado. Otras características que definen a los bronquiolos, son que no poseen cartilago ni glándulas en su pared .

El epitelio de los bronquiolos no es tan grueso como el de los bronquios. En los bronquiolos de mayor calibre predominan las células cilíndricas no ciliadas llamada de Clara (Ham, 1988).

La población de células de Clara en el revestimiento epitelial de los bronquiolos, es uno de los tipos de células más heterogéneas y multifuncionales en el pulmón de los mamíferos.

En cuanto a la población del epitelio bronquiolar esta constituido en un 65% por células ciliadas y un 35% por no ciliadas. De estas últimas se han descrito algunas como células serosas, intermedias, en cepillo y la célula de Clara (Fortoul, 1984).

1.10.c Célula de Clara.

La célula de Clara fué descrita por primera vez por Kölliker en 1853, en el bronquiolo de perro. En 1937, se realizó una descripción más detallada de la célula de Clara por Max Clara, de quien lleva el nombre. En 1956 Karrer hace la primera descripción ultraestructural de dicha célula en el bronquiolo de dicha célula en el bronquiolo de ratón.

A nivel ultraestructural se ha encontrado gran variabilidad entre especies de mamíferos. Las características morfológicas más notables de esta célula son a nivel de microscopía de transmisión (Fortoul,1984).

En la mayoría de las especies de mamíferos la célula de Clara se caracteriza por presentar una proyección apical hacia la luz del bronquiolo.

La célula de Clara se localiza en los bronquiolos terminales y se extiende desde la lámina basal hasta la luz del bronquiolo, es decir, en la porción proximal o central del acino pulmonar. Esta es la zona de transición entre las vías de conducción y el área de intercambio gaseoso.

La composición del espacio peribronquiolar asociado con las células de Clara incluye la presencia de músculo liso adyacente a la lámina basal, colágena entremezclada con elastina y pocos capilares.

La célula de Clara se define como cuboidea o columnar, con pocas proyecciones apicales, libre de microvellosidades apicales largas con acúmulos de microfilamentos densos. Presenta gránulos ovoideos en la parte apical de la célula, estos gránulos están rodeados de una membrana electrodensa y gran cantidad de retículo endoplásmico liso. En relación a sus gránulos, se han detectado, dependiendo de la especie estudiada, diferentes componentes predominando lípidos y mucopolisacáridos (Charles, et al, 1991)

La presencia de fosfolípidos en la célula de Clara, hizo postular a Niden en 1967 la posibilidad de que esta fuera la productora del surfactante y no el neumocito tipo II, este aspecto actualmente se encuentra totalmente aclarado, ya que es el neumocito tipo II es el que lo produce.

Body en 1974 detectó en la célula de Clara una alta concentración de las enzimas del grupo conocido como "oxidasas de función mixta" asociadas o dependientes del citocromo P-450. Este sistema enzimático se encarga de eliminar los compuestos xenobióticos solubles en lípidos, oxida a los compuestos no polares, aumentan la solubilidad en agua y proporciona grupos funcionales para conjugar esos compuestos con glucurónidos o sulfatos, facilitando la eliminación de las mismas, estas enzimas se localizan en la fracción microsomal de la célula.

Estudios realizados con esta célula han demostrado que puede ser la precursora directa de la célula ciliada ante agresiones como: inhalación de NO₂, inyección de polonio, inhalación de ozono y tratamiento con uretano.

Las funciones que se le han atribuido a la célula de Clara hasta ahora son:

- Productora del material que cubre a los cilios del epitelio bronquiolar.
- Sitio de metabolismo de productos xenobióticos.
- Reguladora del metabolismo del surfactante.
- Reparadora del epitelio bronquiolar al dar origen a la célula ciliada.

(Fortoul, 1984)

La célula de Clara tiene su núcleo en la zona media, el cual es alargado y bilobulado y hacia la base de la célula. La zona apical de la célula de Clara se caracteriza por contener gran cantidad de retículo endoplásmico liso, el cual consiste de vesículas y largos túbulos comunmente ramificados. El espacio cubierto por las membranas del retículo endoplásmico liso contiene un material amorfo poco denso y por otro lado el retículo endoplásmico rugoso es abundante en la zona media, frecuentemente se encuentra rodeando a la mitocondria dándole la apariencia de contener gran cantidad de capas (Smith, et al, 1974). La mitocondria en la zona apical es típicamente esférica, la matriz mitocondrial es electrodensa con bordes alargados, curvos y ramificados (Young, et al,1986).

La célula de Clara posee gránulos que con base a su forma y electrodensidad que se dividen en tres tipos, como se señala en el cuadro 3.

GRANULO	DEFINICION
Obscuro	Gránulo electrodense comúnmente ovoide diámetro aproximado de 0.5 μm
Claro	Gránulo alargado, electrolúcido con su centro electrodense y con un diámetro aproximado de 0.8 μm
Alargado	Gránulo electrodense con forma aplanada (no presente en todas las células) con un diámetro aproximado de 0.2 a 1 μm

Cuadro 3. Definiciones de los gránulos de la célula de Clara (Stephen et al, 1986)

1.11 Daño Bronquiolar.

En lo que se refiere a la respuesta ante lesiones según Charles en 1991, muestra que el epitelio bronquiolar sufre daño dependiendo de cuatro factores importantes: la ruta por la cual el irritante (o tóxico) alcance al epitelio

bronquiolar, la duración de la exposición al irritante, la concentración del irritante y la organización de la zona centroacinar de transición.

Por otra parte asegura que la célula ciliada bronquiolar es el blanco principal de los gases oxidantes como (O_2 , NO_2 y O_3). La respuesta principal de daño a las células ciliadas es la mitosis activa de la célula de Clara. La exposición a gases oxidantes en lapsos muy cortos produce la reorganización del epitelio bronquiolar en 7 días (exposición aguda). Las exposiciones a los gases irritantes durante 90 días o más produce hiperplasia de la célula de Clara (Charles, 1991).

En lo que se refiere a daño ultraestructural se reporta que las mitocondrias empiezan a sufrir cambios morfológicos: pérdida de las partículas elementales, disminuye la síntesis de ATP, hay mayor retención de Na^+ . Existen otros procesos que provocan aumento de volumen en las mitocondrias como ocurre en los casos de deficiencia de vitamina E con Selenio, o en su defecto la matriz mitocondrial es menos densa, las crestas se vuelven cortas y desorientadas, alteración que ocurre cuando hay demasiada absorción de agua. Esto puede llevar a que las mitocondrias se transformen en grandes vacuolas sin estructura, como ocurre en aquellas entidades de desequilibrio hídrico, edema, fiebre (elevada y prolongada) e intoxicaciones como por ejemplo: Arsénico (Ar), Bismuto (Bi), Fósforo (P), Oro (Au), Plomo (Pb), Cadmio (Cd), etc (Trigo y Mateos, 1987). Un ejemplo claro de daño celular es el que causa la mezcla de óxido de cadmio y óxido de zinc en macrófagos alveolares alterando a la mitocondria disminuyendo el número de estas. Pero en algunas otras células como es el caso del neumocito tipo II causa un incremento en el número de mitocondrias variando el tamaño y forma de estas, y con presencia de cuerpos multivesiculares. En el neumocito tipo II se observa que las mitocondrias presentan forma alargada con hipertrofia (Murthy y Holovack, 1991).

Algunos autores sugieren que la mitocondria y su membrana pueden ser el sitio de la lesión primaria ante un xenobiótico, otros opinan que la lesión podría ocurrir a nivel nucleolar y/o a nivel RNA. Se reporta que en las membranas celulares de los fibroblastos existen figuras mielínicas ante una agresión inducida por cadmio; en este estudio Ord en 1988 menciona que las mitocondrias sufren cambios en su forma causadas por cadmio, estos cambios se refieren a la aparición de grandes áreas translúcidas en la matriz

mitocondrial con figuras mielínicas. La literatura reporta que la exposición aguda y crónica al cadmio produce daño principalmente a la mitocondria. Con la presencia de cadmio, los ribosomas también juegan un papel importante en la producción de proteínas citosolicas como una especie de mecanismo de defensa a la intoxicación por cadmio (Ord, et. al., 1988)

2. HIPOTESIS.

Si el cadmio es un agente xenobiótico, el cual penetra hasta vías respiratorias bajas causando principalmente daño pulmonar al ser inhalado, entonces será factible que mediante el modelo experimental se encuentren alteraciones morfológicas bronquiolares diferentes, relacionadas con las concentraciones inhaladas por los ratones.

3. OBJETIVO GENERAL.

Confirmar si el modelo experimental seleccionado es el adecuado para encontrar alteraciones bronquiolares por vía inhalada en ratón.

3.2 Objetivo Particular.

Identificación de las alteraciones morfológicas bronquiolares que ocasiona la inhalación aguda de cloruro de cadmio durante dos fases y con dos concentraciones (0.006 y 0.012 M) en ratón.

4. MATERIAL Y METODO.

Se utilizaron 52 ratones macho CD-1 con un peso promedio de 30 g. que se sometieron a la inhalación de cloruro de cadmio 30 min. 3 veces a la semana durante 1 semana. La mitad de los ratones (26) inhalaron una concentración de cloruro de cadmio de 0.012 M, y el otro grupo una concentración de 0.006M. Un grupo de 14 ratones con las mismas características sirvió como control, inhalando solamente el vehículo que se utilizó para hacer la solución (agua bidestilada desionizada).

Para hacer la solución de cloruro de cadmio 0.006 M se pesaron 0.219 g. disueltos en 200 ml de agua bidestilada y desionizada; para la concentración de 0.012M se disolvieron 0.439g de cloruro de cadmio en 200 ml de agua destilada desionizada. Antes de cada inhalación se preparó la solución correspondiente para evitar precipitación.

Las inhalaciones se realizaron en una caja de acrílico transparente de 31.47 cm³ a la que se conectó un ultranebulizador (Ultra Neb 99 DeVilbis), con un flujo de 10 l/ min. Después de cada inhalación los animales se colocaron en sus respectivas cajas, dándoles libre acceso al agua y alimento.

Los sacrificios se dividieron en dos fases:

FASE I comprendió desde el inicio de las inhalaciones, que incluye los días 1 y 3 (durante las inhalaciones).

FASE II inició a partir del siguiente día de la última inhalación (etapa postinhalatoria), que corresponde a los días 1, 3, 5, 7 y 9 (Cuadro 4).

FASE	I			II				
DIAS INHALACION	0	2	4	SIN INHALACIONES				
DIAS SACRIFICIO	1	3		1	3	5	7	9

Cuadro 4. Calendario del modelo experimental, explicando las fases de inhalación y sacrificio.

El sacrificio de los ratones se hizo por dislocación cervical en días terciados, se sacrificaron un total de 8 ratones por día, de los cuales se incluyeron 3 ratones que inhalaron la dosis de 0.006M de CdCl₂ y 3 ratones con la concentración mayor de 0.012M de CdCl₂, y finalmente dos ratones

control. Se fijó al ratón en una plancha de parafina y se hizo una incisión desde el abdomen hasta el cuello, disecando la tráquea y canulándola e instilando glutaraldehído al 2.5% en buffer 0.1 M de cacodilatos pH 7.4 (420 mosm), hasta capacidad pulmonar total, procediendo a la ligadura de la tráquea para la extracción del bloque cardiopulmonar. Siempre se tomaron muestras del pulmón derecho del ratón para microscopía de luz, y la parte media del pulmón izquierdo del ratón para microscopía electrónica de reflexión (barrido) y transmisión.

4.1 Microscopía de Luz

Se tomó un segmento de pulmón derecho, se procesó y se incluyó en parafina para su estudio por microscopía de luz, tiñendo los cortes con Hematoxilina-Eosina.

4.2 Microscopía Electrónica de Reflexión (barrido).

Se seleccionaron las mismas áreas que en el caso de transmisión. Una vez instilado el pulmón con fijador de glutaraldehído; se separó la parte media del pulmón izquierdo, el cual se seccionó en tres porciones y se fijaron durante tres horas.

Posteriormente se postfijaron, ya seccionados, en tetraóxido de osmio 1% durante 2 hr. y se prosiguió a la deshidratación con alcoholes de concentración ascendentes que van desde el 20 % hasta el 100 %. La muestra de tejido se desecó a Punto Crítico en un desecador Samdry-780A por cinco minutos utilizando CO₂. Los fragmentos de tejido se colocaron en plataformas de aluminio, evaporados con carbón durante dos minutos se ionizaron con oro por seis minutos, utilizando un ionizador JEOL. Por último se observó en un microscopio electrónico Zeiss DSM-950, y se fotografiaron las muestras a un voltaje de 15 kv.

4.3 Microscopía Electrónica de Transmisión

Después de haber quitado el pulmón izquierdo se procedió a cortar en fragmentos de aproximadamente 5 mm^3 que se postfijaron por 2 horas en tetraóxido de osmio al 1%. Se deshidrató en concentraciones de alcohol progresivas desde el 50%, hasta el 100% (de las mismas porciones que se seccionaron en la técnica de microscopía de luz) y se incluyó en Araldita 6005 (resina epoxy). Se hicieron cortes semifinos en un ultramicrotomo, de los que se seleccionaron los campos para hacer los cortes finos (60 nm), para posteriormente observar el bronquiolo en un microscopio Zeiss EM-109. Los cortes finos se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo de Reynolds para su posterior observación.

4.4 Determinación del tamaño de la partícula de Cloruro de Cadmio.

Se utilizó un filtro de metricel con un poro de $0.8 \mu\text{m}$ (Gelman Sci no. cat. 64678) que se colocó en la salida del flujo de vapor de Cloruro de Cadmio en el ultranebulizador durante cinco minutos. Posteriormente se desecó a 60°C durante dos minutos, se cubrió con oro y se observó en un microscopio de Reflexión (barrido) DSM 950.

5. RESULTADOS.

Hallazgos Generales:

Se realizaron dos estudios piloto para determinar la dosis letal total y media en ratones machos CD-1, que fueron de 0.05M y 0.025M de Cloruro de Cadmio respectivamente. Durante la inhalación, los ratones presentaron insuficiencia respiratoria (tiraje intercostal) la cual desaparecía una hora después de suspendida la inhalación.

Con la concentración de 0.006 M de $CdCl_2$ también se observaron deprimidos en su actividad motora normal, el 30% de los ratones se observaron inquietos, y al estar fuera de la caja se tranquilizaron. Para 0.012M ($CdCl_2$) dentro de la cámara algunos ratones se colocaban en la salida del flujo de vapor de la solución en cuestión, y al estar fuera presentaron insuficiencia respiratoria y disminución en la actividad motora.

Los animales control no presentaron cambios en su actividad durante y después de la inhalación.

5.1 Cambios Morfológicos Observados en Bronquiolo en Microscopía de luz.

Animales control: El bronquiolo se identificó por la presencia de células ciliadas y no ciliadas, de estas últimas algunas con sus núcleos respectivos, cuyo citoplasma hacía prominencia hacia la luz bronquiolar, identificadas como células de Clara (figura 1).

Con esta técnica de microscopía, en los animales dañados se logró apreciar en algunas muestras que las células de Clara presentaban hipertrofia e hiperplasia, tanto para la dosis de 0.006M 3 días (fase II) como para la de 0.012M 1 día (fase II) de $CdCl_2$; mostrándose daño severo en ambas concentraciones (figura 2). Debido a que con esta técnica no se observaron diferencias, se procedió a utilizar la Microscopía Electrónica (Barrido y Transmisión).

5.2 Modificaciones Encontradas en Bronquiolo en Microscopía Electrónica de Reflexión (Barrido).

Las muestras control mostraron un epitelio que iba de cilíndrico (columnar) pseudoestratificado ciliado hasta cúbico alto. Entre las células que se encontraron figuraron la célula de Clara por su forma de cúbica a cilíndrica y las células ciliadas que se caracterizan por la presencia de cilios (figura 3). Con la dosis de 0.006M día 1 que corresponde a la Fase I las muestras presentaron hiperplasia e hipertrofia de la célula de Clara, así como lisis celular. Las células ciliadas a los 3 días (Fase I) mostraron muy pocos cilios, encontrándose también menor alteración en las células de Clara (figura 4). A los días 1 y 3 días (Fase II) se observó el mayor daño, presentándose hipertrofia e hiperplasia con gran cantidad de gránulos de excreción que se encontraban muy cerca del apice celular (figura 5), y algunas zonas con destrucción de cilios y material protéico disperso. Algunas células de Clara a los 5 días (Fase II) mostraron invaginaciones y muerte celular (figura 6) y el daño persistió por varios días.

Con la concentración de 0.012M se observó que a los días 1 y 3 (Fase I) las células de Clara presentaron invaginaciones en su citoplasma, pérdida de algunos cilios de la célula ciliada y también que la célula de Clara perdió su volumen celular normal excretando su material intracelular.

Posteriormente a los días 1 y 3 (Fase II) se observó a la célula de Clara presentó hipertrofia e hiperplasia acompañada de gran cantidad de gránulos de excreción; así como células muertas y material protéico disperso (figura 7). En los días subsecuentes se mantuvo el mismo daño con la presencia de hipertrofia en la célula de Clara, invaginaciones en la superficie celular de la misma, material protéico disperso en el epitelio bronquiolar, lisis celular y algunos cilios destruidos (Figura 8).

5.3 Alteraciones Encontradas en Microscopía Electrónica de Transmisión.

Fue necesario realizar una técnica más de microscopía, para poder visualizar con mayor detalle el daño celular.

Muestras de animales control: Mostraron un límite celular bien definido así como presencia de gránulos distribuidos en todo el citoplasma de la célula de Clara y algunas mitocondrias con crestas. También se observó retículo endoplásmico rugoso en la parte apical de la célula de Clara. La membrana nuclear de la célula de Clara se presentó bien delimitada (Figura 9).

Menor Concentración de $CdCl_2$ (0.006M).

Las muestras de pulmón tomadas el primer día fase I (después de la primera inhalación), presentaron en la célula de Clara hiperplasia de retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias con edema e hiperplasia del retículo endoplásmico liso.

En cuanto a los gránulos presentes en la célula de Clara algunos se encuentran en la parte media y otros en la zona apical de la célula (figura 10). Los cuerpos multivesiculares se apreciaron en la célula de Clara así como en la célula ciliada, en esta última las mitocondrias se mostraron con edema (figura 11).

Para el día uno fase II las células de Clara presentaron hiperplasia de retículo endoplásmico rugoso, y cuerpos multivesiculares. El daño no se muestra muy evidente en comparación al primer día fase I (figuras 12). A los tres días fase II (después de la última inhalación), se mostró el mayor daño, observándose en la célula de Clara hiperplasia del retículo endoplásmico rugoso a manera de remolinos inmersos en el citoplasma, dentro de estos remolinos en su porción central se observan gránulos (figura 13). En cuanto a la célula ciliada presentó cuerpos multivesiculares (figura 14).

La muestra obtenida a los siete días fase II, presenta una recuperación debido a que no se observan los remolinos característicos de retículo endoplásmico rugoso de las muestras observadas a los tres días fase II, aunque predomina la hiperplasia de retículo endoplásmico rugoso. (figura 15).

Mayor Concentración de Efectos Encontrados de CdCl₂ (0.012 M).

Primer día fase I se observa aumento en el número de gránulos así como de vesículas en la célula de Clara. Las vesículas aparecen en la parte apical de la célula, como si pareciera que estas fueran excretadas hacia la luz bronquiolar y las mitocondrias se observan densas (figuras 16). A los tres días fase I, en la célula de Clara los gránulos permanecen en la periferia y el retículo endoplásmico se hace presente en forma de remolino, también se observan las mitocondrias densas (figura 17). La célula ciliada presentó aumento en el número de mitocondrias observándose hipertroficas, así como una aparente pérdida de los cuerpos basales de los cilios (figura 18). En el primer día de la fase II (después de la última inhalación), en la célula de Clara persistió la presencia de remolinos de retículo endoplásmico rugoso, hipertrofia de mitocondrias, aumento en número y tamaño de los gránulos así como presencia de algunos cuerpos multivesiculares, presentándose así el daño más severo (figura 19). Para los tres días fase II, en la célula de Clara se disminuyen los gránulos en número y las mitocondrias se observan menos densas a diferencia de los días correspondientes a la fase I (figura 20). Para los cinco días fase II no se presentan grandes cambios en el citoplasma de las células de Clara y la ciliada (figura 21).

FOTOGRAFÍAS



Figura 1. Microfotografía que muestra el epitelio bronquiolar normal (EB), con algunas células de Clara poco visibles. También se observa un vaso sanguíneo (VS) Luz 200 x.



Figura 2. Microfotografía que corresponde al 1^{er} día fase II con 0.012 M de CdCl_2 , en donde se aprecia hipertrofia e hiperplasia del epitelio bronquiolar (EB) Luz 200 x.



Figura 3. Microfotografía de una muestra control en donde se observa la forma clásica de la célula de Clara (cC) que va de cúbica a cilíndrica y los cilios (Cl) de la célula cilada (Barrido 2000 \times).

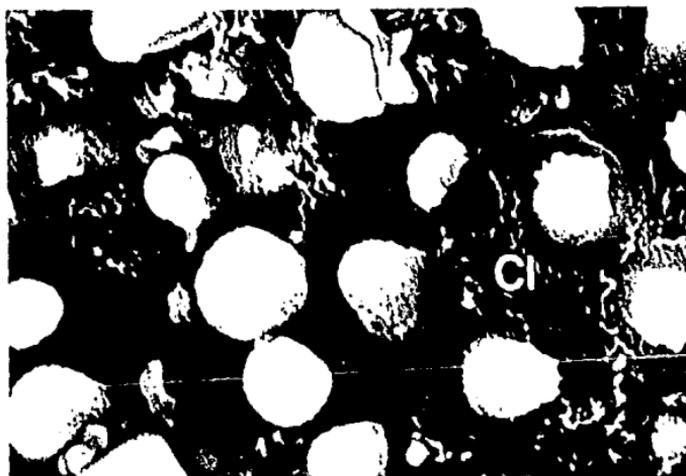


Figura 4. Microfotografía que corresponde a los 3 días fase I con 0.006 M de CdCl₂ en donde se aprecia pérdida de cilios (Cl) de la célula cilada. Las células de Clara (cC) pierden su volumen celular normal (Barrido 2000 \times).



Figura 5. Microfotografía que corresponde a 3 días fase II con 0.006 M en donde se aprecia de manera persistente la hipertrofia (*) en menor grado de la célula de Clara (cC), en su superficie celular gran cantidad de vesículas de excreción (Ve), y se alcanza a observar algunos cilios con material protéico (Mp) Barrido 2000 x.

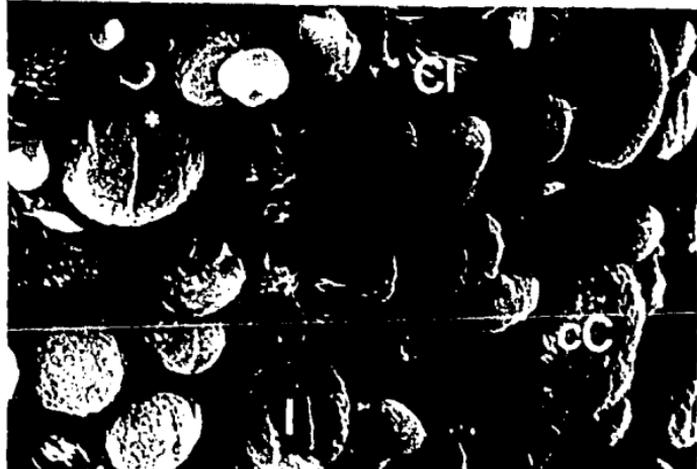


Figura 6. Microfotografía que corresponde a 5 días fase II con 0.006 M en donde se observa hipertrofia (*), invaginaciones (I) y lisis celular de la célula de Clara (cC) Hay poca presencia de cilios (Cl) de la célula ciliada (Barrido 2000 x)



Figura 7. Microfotografía que muestra las alteraciones causadas a los días 1 y 3 fase II con 0.012 M de CdCl_2 en donde se observa hipertrofia (*) e hiperplasia de la célula de Clara (cC), vesículas de excreción (Ve) en su superficie celular, así como la presencia de cilios (Cl), que indican que la célula ciliada no sufrió un daño severo (Barrido 5000 x).

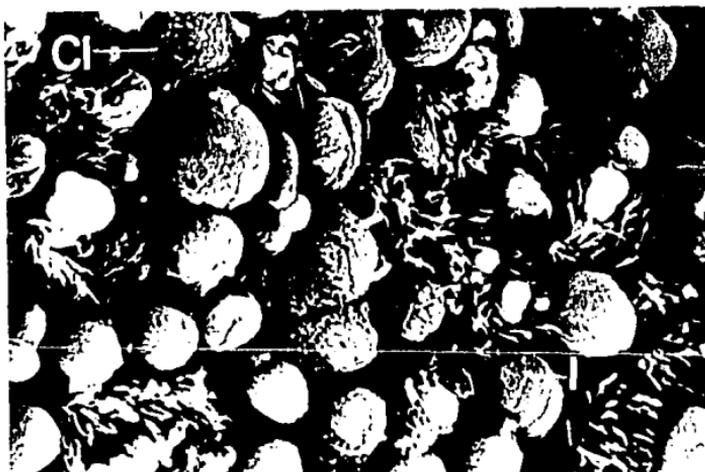


Figura 8. Microfotografía que muestra una recuperación del bronquiolo después de 7 días de haber finalizado la inhalación fase II. Se observan células de Clara hipertróficas (*), invaginaciones (I) y cilios (Cl) en menor proporción de la célula ciliada (Barrido 2000 x)



Figura 9. Microfotografía que muestra los organelos del bronquiolo de ratón, en donde se aprecia en la célula de Clara un núcleo (Nu) bien definido, mitocondrias electrodensas (Mi), retículo endoplásmico rugoso (RER) y los gránulos clásicos (Gr). Muestra Control (Transmisión 7000 x).

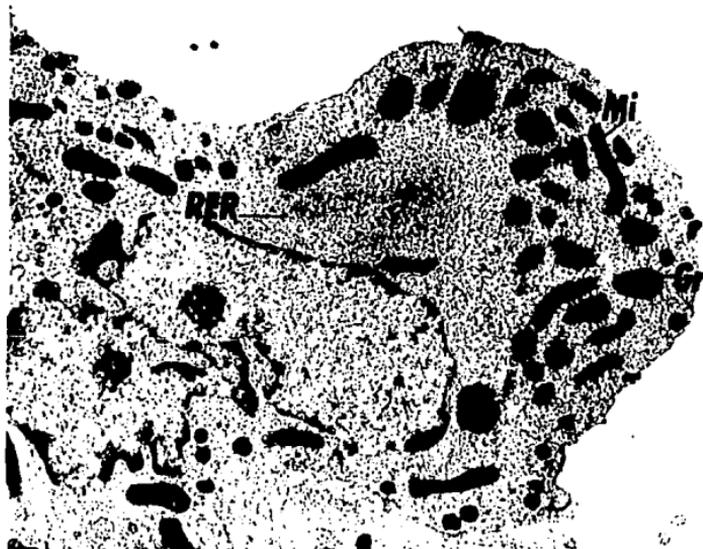


Figura 10. Microfotografía que muestra alteraciones al día 1 fase I con 0.006 M CdCl_2 , en donde se observa la célula de Clara con hiperplasia del retículo endoplásmico rugoso (RER), mitocondrias (Mi) con pérdida de crestas, los gránulos (Gr) se desplazan hacia el ápice celular (Transmisión 7000 x).

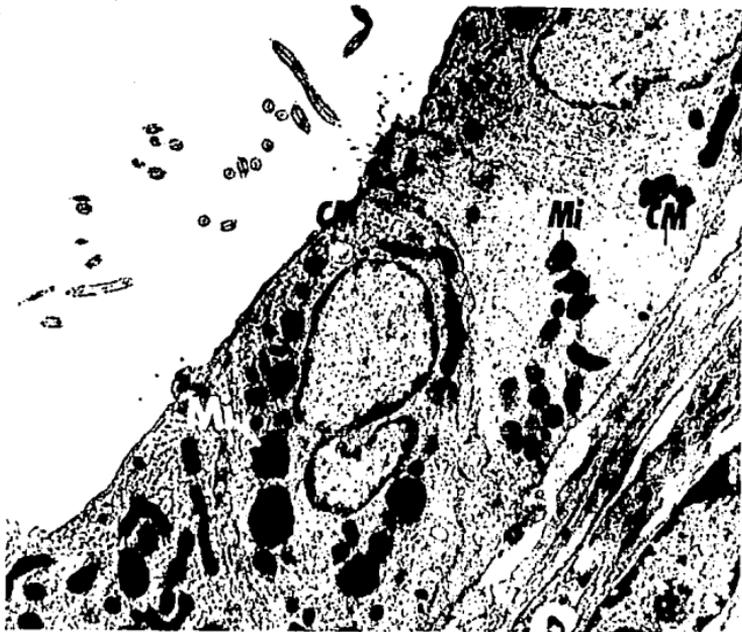


Figura 11. Microfotografía en donde se aprecia el daño encontrado para 1 día fase I 0.006 M. Se presentan evidentes cuerpos multivesiculares (CM) en la célula de Clara y en la célula ciliada. En ambas células las mitocondrias (Mi) se muestran con edema y algunas sin crestas (Transmisión 7000 x).

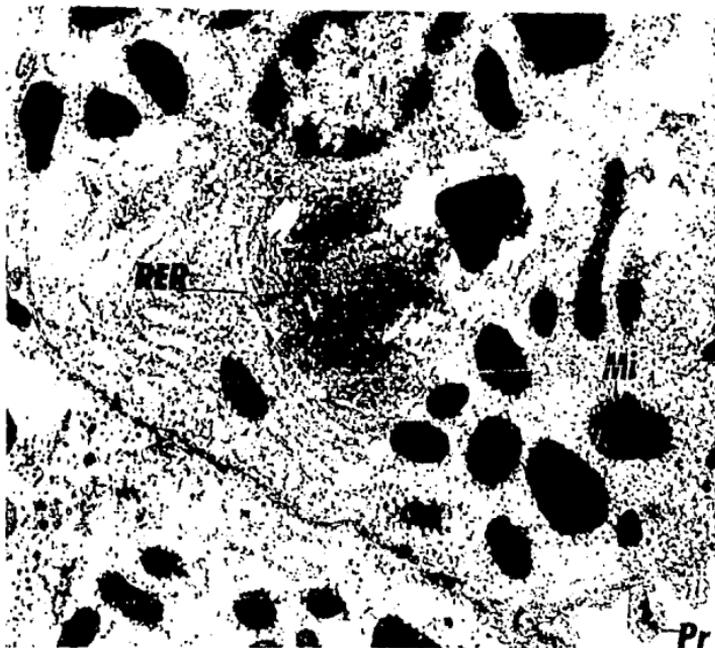


Figura 12. Microfotografía que muestra el daño presentado para la concentración 0.006 M CdCl₂ al día 1 fase II, en donde se observa a la célula de Clara con hiperplasia del Reticulo Endoplásmico Rugoso (RER) con algunos gránulos en el centro, mitocondrias edematosas (Mi) con pérdida de sus crestas. En la membrana celular se observan protuberancias (Pr) Transmisión 12 000 x

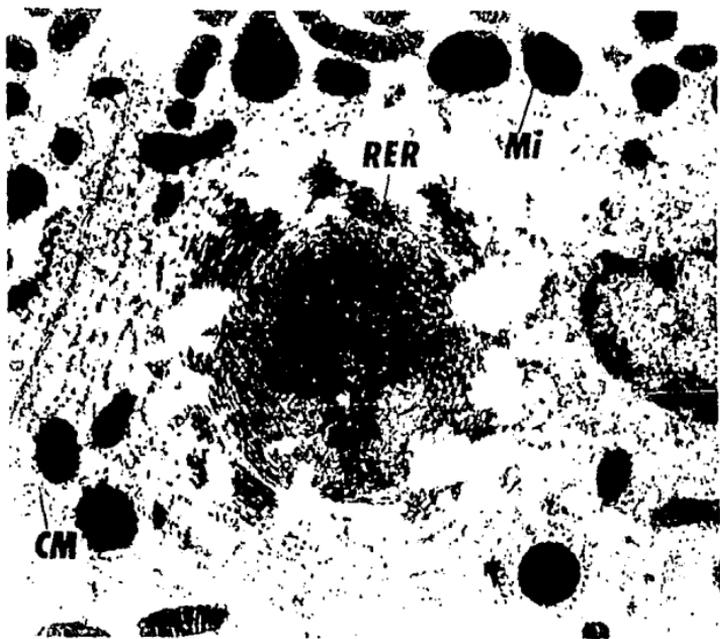


Figura 13. Microfotografía que muestra las alteraciones encontradas a los 3 días después de la última inhalación de CdCl_2 con 0.006 M, en donde la célula de Clara en su ultraestructura presenta mitocondrias (Mi) con edema y pérdida de sus crestas, cuerpos multivesiculares (CM), y por último hiperplasia del Reticulo Endoplásmico Rugoso (RER) Transmisión 12 000 X).

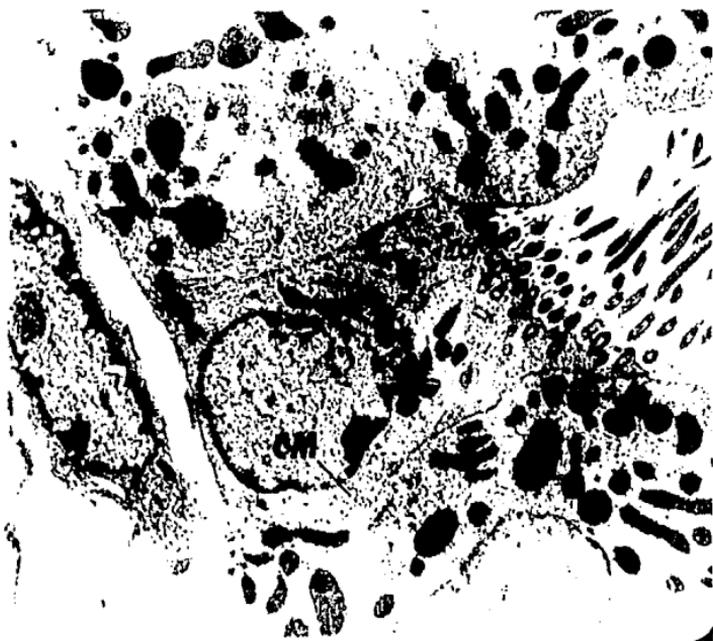


Figura 14. Microfotografía que muestra que la célula ciliada a los 3 días fase II con CdCl_2 0.006 M, presenta poco daño, observándose cuerpos multivesiculares (CM) Transmisión 7000 x.

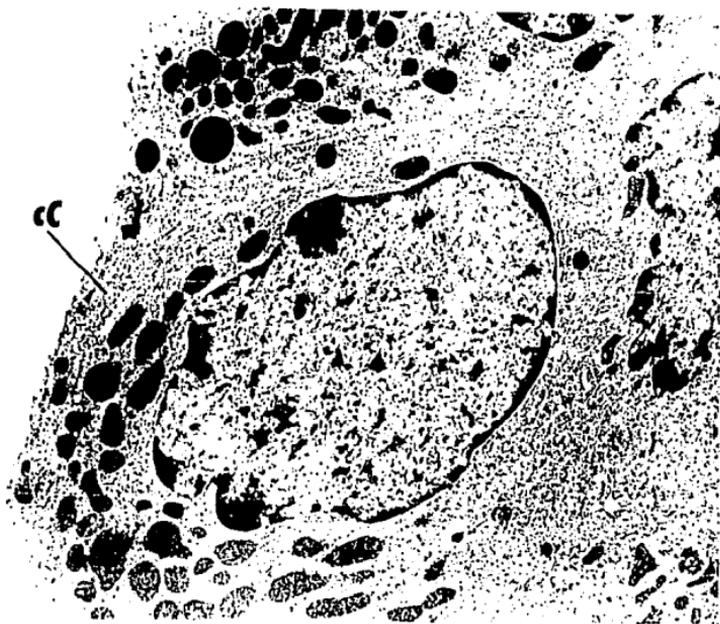


Figura 15. Microfotografía que presenta una recuperación en la célula de Clara (CC) a los 7 días después de la última inhalación de CdCl_2 0.006 M (Transmisión 7000 x).

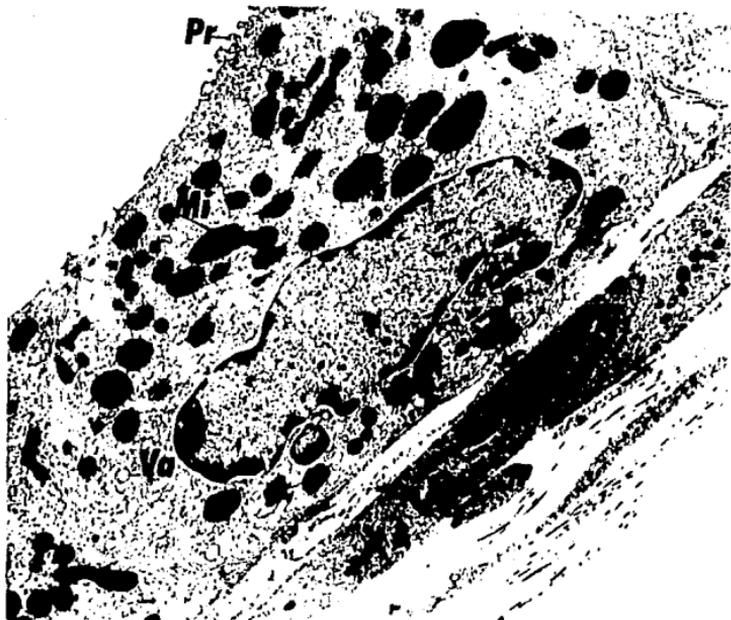


Figura 16. Microfotografía que muestra el daño encontrado al primer día de la inhalación fase I con CdCl_2 0.012 M, en donde se observa la célula de Clara con gran cantidad de vacuolas (Va), mitocondrias (Mi) con edema y pérdida de sus crestas, y por otro lado la membrana celular presenta protuberancias (Pr) Transmisión 7000 x.

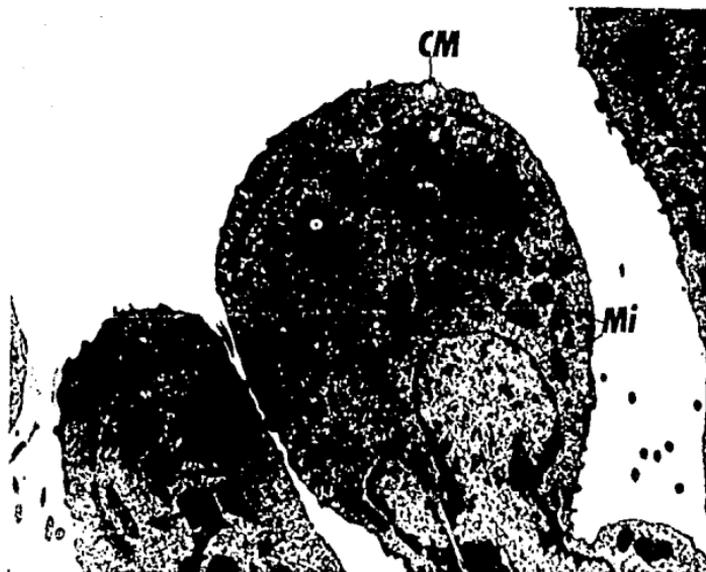


Figura 17. Microfotografía que muestra el daño encontrado en la célula de Clara al 3^{er} día fase I con CdCl_2 0.012 M, en donde se observa hipertrofia de la célula de Clara, cuerpos multivesiculares (CM), hiperplasia (*) del Reticulo Endoplásmico Rugoso y algunas mitocondrias (Mi) mas electrodensas de lo normal (Transmisión 7000 x).

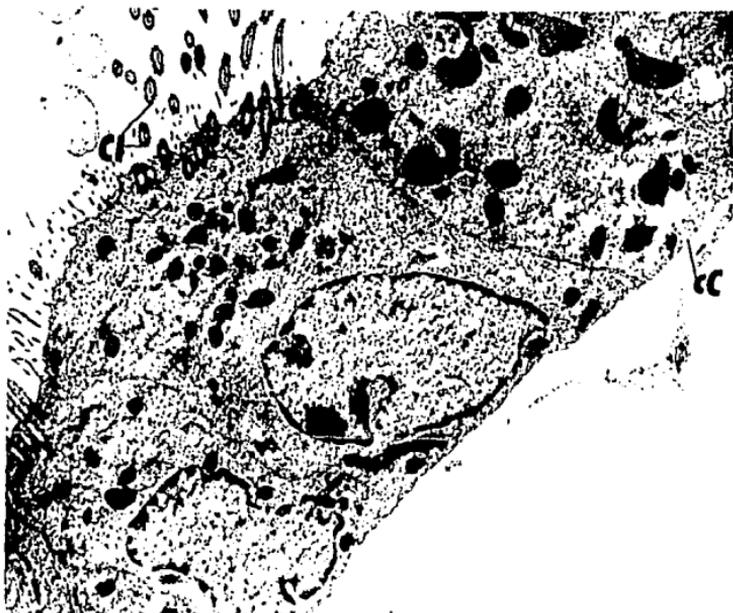


Figura 18. Microfotografía que muestra que no hay un daño muy evidente en la célula de Clara (cC) al 3^{er} día fase I con 0.012 M CdCl₂. En cuento a la célula ciliada, parece que hay una aparente pérdida de los cuerpos basales (Cb) de los cilios (CI) Transmisión 7000 x.

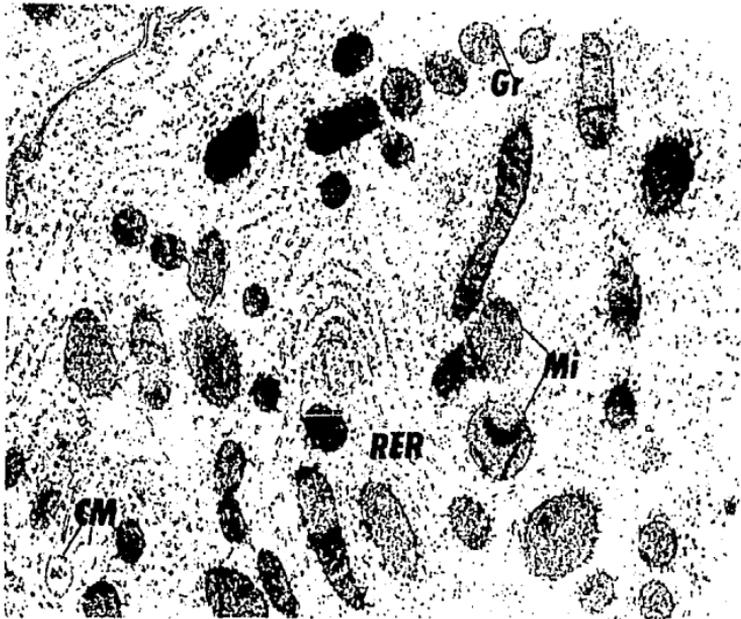


Figura 19 Microfotografía que muestra el daño causado al primer día después de la última inhalación de CdCl_2 0.012 M. en donde la célula de Clara presenta hiperplasia (°) del Reticulo Endoplásmico Rugoso (RER), cuerpos multivesiculares (CM), gran cantidad de gránulos (Gr), y las mitocondrias (Mi) pierden sus crestas o se encuentran desorientadas (transmisión 12 000 x)

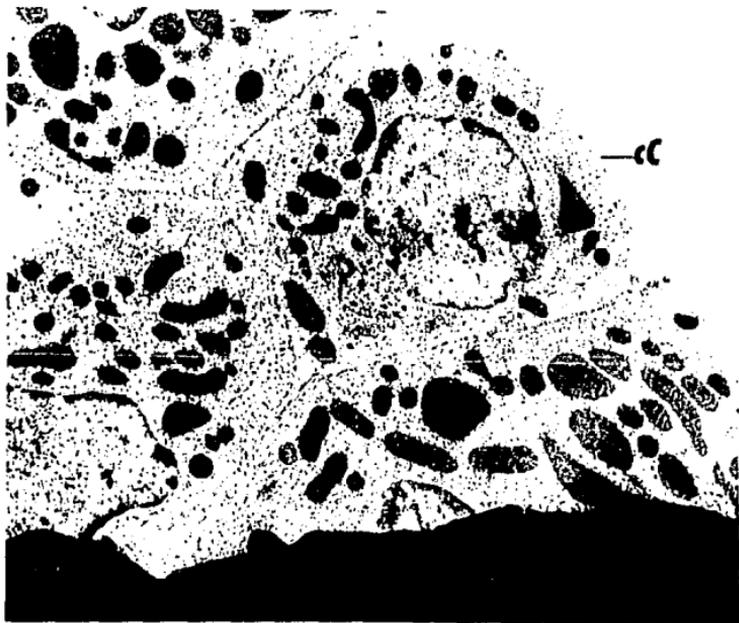


Figura 20. Microfotografía en donde se observa una recuperación de la célula de Clara (cC) a los 3 días fase II con 0.012 M de CdCl_2 (Transmisión 7000 x).

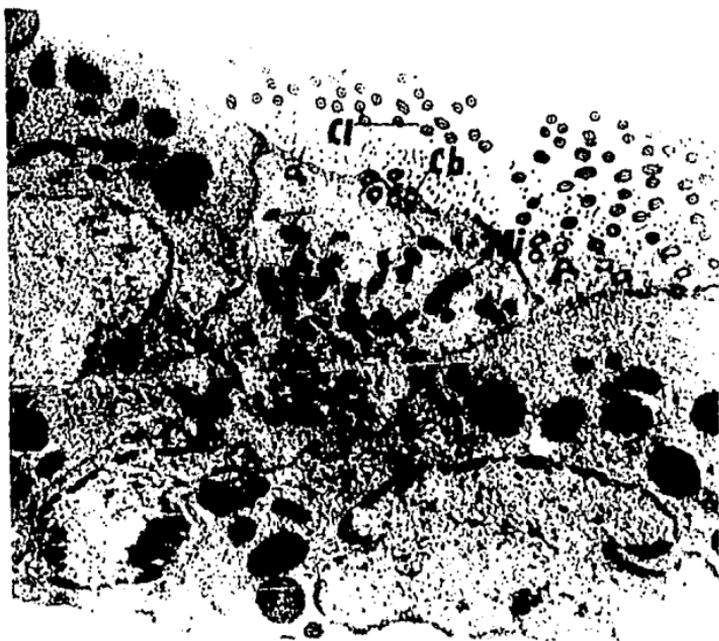


Figura 21. Microfotografía que muestra a los 5 días fase II la imagen de la célula ciliada con disminución de cilios (Cl) y algunos cuerpos basales (Cb), las mitocondrias (Mi) se aprecian con edema (Transmisión 7000 x)

6. DISCUSION.

El cadmio es un metal que se encuentra suspendido en la atmósfera, ocasionando diversos efectos a la salud, principalmente al sistema respiratorio. En México se tiene poca información de las concentraciones de este metal en el aire y en consecuencia sobre los efectos causados al pulmón por este metal; sin embargo, con este estudio se pretende dar a conocer la importancia que requiere la investigación toxicológica por cadmio, dadas las alteraciones encontradas mediante la utilización del modelo experimental de inhalación aguda en ratones.

El modelo experimental utilizado no se encontró descrito en otros trabajos, sin embargo este ha sido utilizado anteriormente en el laboratorio de Biol. Cel. y Tisular Fac. Medicina. Algunos autores usaron la técnica de instilación intratraqueal de $CdCl_2$, en la que parece que el daño es mucho más agudo, mientras que con la técnica utilizada en el presente trabajo los daños encontrados fueron un poco más leves a los de la técnica mencionada anteriormente. La técnica utilizada para la vía de penetración del metal es importante, ya que esta determina la concentración y distribución del metal en el tejido y por lo tanto la magnitud o grado de lesión.

Las dosis ocupadas en este trabajo fueron seleccionadas con base a un experimento piloto, donde se utilizaron 0.05 M y 0.025 M de $CdCl_2$. Fue necesario bajar estas dosis dada la mortalidad observada entre los ratones. Las dosis con las que se pudo realizar el trabajo experimental fueron 0.006M 0.012 M de $CdCl_2$.

Las técnicas utilizadas para describir morfológicamente el daño fueron en un principio microscopía de luz y electrónica de barrido, sin embargo la información más detallada, que se requería se obtuvo con microscopía electrónica de transmisión, con la cual se pudo detectar el daño a nivel de organelos. Por otro lado con microscopía de luz sólo se pudo observar el daño tisular general, y con microscopía de barrido como era lo esperado el daño se limitó a superficies celulares (hipertrofia e hiperplasia) y mostraron que con menor concentración (0.006M de $CdCl_2$) el daño fue más severo al día tres durante la fase II (postinhalación) presentando hiperplasia e hipertrofia de la célula de Clara así como lisis celular y las células ciliadas mostraron los cilios apelmazados. En comparación con el daño encontrado con la dosis mayor

(0.0012M de $CdCl_2$), este se presentó más tempranamente, es decir, al día uno fase II las células para esta dosis tenían invaginaciones en su citoplasma, lisis celular, hipertrofia, hiperplasia y material protéico disperso en la superficie celular. Esto indica que la dosis menor tarda un poco más en ocasionar daño severo y las células tratan de alguna manera de responder ante la agresión, mientras que con la dosis mayor el daño se presenta más rápidamente ya que la concentración es más alta, y la célula no tiene un mecanismo adecuado de defensa inmediato, que pueda responder en un periodo de tiempo tan corto.

Comparando nuestros hallazgos con los de otros autores en microscopía de Barrido encontramos una cierta semejanza en cuanto al daño en la célula de Clara, como por ejemplo un estudio realizado por Kitamura (1987), en el cual encontró un aumento de volumen del citoplasma de la célula de Clara en ratón, después de haber administrado glicerol en el agua de beber durante ocho semanas que duró el tratamiento. El daño celular más evidente que se encontró en este trabajo fue la hiperplasia e hipertrofia como se mencionó anteriormente. Por otro lado hay un estudio en donde utilizaron ratones CD-1 a los que se les administró tricloroetileno por vía intraperitoneal, que muestra el daño causado a la célula de Clara presentándose una marcada alteración en el contorno celular, es decir, pierden su forma clásica redondeada y muestran colapso de la superficie celular, mientras que hay una pérdida mínima de cilios (Forkert y Troughton, 1987). Estas alteraciones se relacionan con algunas invaginaciones que encontramos en la células de Clara mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido con la concentración menor (0.006 M de $CdCl_2$) al primer día después de haber finalizado la inhalación de este compuesto y para la concentración alta (0.0012 M de $CdCl_2$) durante la inhalación del compuesto también se presentaron las invaginaciones, así mismo, encontramos pérdida de cilios en nuestro experimento. Otro trabajo en donde las ratas fueron expuestas a cloruro de cadmio 0.15M en aerosol, menciona que después de 21 días de exposición diaria, el bronquiolo se mostró distorsionado con microscopía de luz (Sampson et al, 1984), el autor no menciona nada más específico ya que este tipo de microscopía no proporciona mucha ayuda para analizar daños morfológicos en bronquiolo.

Las alteraciones más importantes en célula de Clara y ciliada que se encontraron con microscopía electrónica de transmisión y barrido, coincidieron con el mismo periodo de tiempo que corresponden a los días uno y tres fase II

con 0.012 M y 0.006 M CdCl_2 respectivamente, es decir los daños se describen de diferente manera debido a la técnica de microscopía utilizada.

Hay autores que sugieren que el daño ultraestructural por algún tóxico altera principalmente a mitocondrias y retículo endoplásmico liso. El daño a estos organelos, es más severo según Early, et al, (1992) con cadmio. Este autor realizó un estudio acerca del efecto del cadmio y/o selenio sobre mitocondrias y retículo endoplásmico rugoso de células de Clara de rata. El tratamiento del experimento se realizó mediante vía intraperitoneal y los animales fueron sacrificados a las 48 y 72 hrs. Early en 1992 encontró que las mitocondrias mostraban regiones vacías en su matriz igual que el retículo endoplásmico rugoso, este último presentó bastantes ribosomas libres (Early et al, 1992). Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran una similitud ya que también el CdCl_2 daña tanto mitocondria como retículo endoplásmico rugoso, pero las alteraciones morfológicas que persisten en la célula de Clara son hiperplasia de retículo endoplásmico rugoso y mitocondrias edematosas muy densas. Así como la presencia de cuerpos multivesiculares en el citoplasma. Es posible que realmente tanto mitocondria como retículo endoplásmico rugoso funcionen como organitos celulares blanco ante agentes xenobióticos. Otro trabajo que respalda esta suposición es el de Trigo y Mateos en 1987 reportaron que con la intoxicación con arsénico (Ar), bismuto (Bi), fósforo (P), oro (Au), plomo (Pb), cadmio (Cd), etc. provoca que las mitocondrias se transformen en grandes vacuolas sin estructura definida y sus crestas se vuelvan cortas y desorientadas. Murthy y Holovack (1991) reportan que el neumocito tipo II ante la exposición de óxido de cadmio y óxido de zinc presenta un incremento en el número de mitocondrias que varían en tamaño y forma.

Un estudio realizado por Richmond et al (1993) dedicado a las observaciones ultraestructurales en células de pulmón de cerdo con deficiencia de cobre en su dieta encontró que la deficiencia de cobre altera el metabolismo de lípidos que se controlan en la célula de Clara. En cuanto a las alteraciones celulares encontradas en esta célula menciona algunas estructuras tubulares similares al retículo endoplásmico liso y algunos cuerpos multivesiculares. La deficiencia de cobre en la dieta según Richmond et al (1993) afecta a la célula de Clara formando estructuras tubulares con el retículo endoplásmico liso a manera de paquete, además se sabe de que uno de los papeles importantes del retículo endoplásmico liso es sintetizar y transportar lípidos. Por otro lado,

se puede pensar que si el cadmio compite metabólicamente con calcio y el cadmio tiene una mayor predominancia que el calcio, entonces podría suceder que al haber deficiencia de calcio exista una alteración en el metabolismo de lípidos parecido a lo que ocurre con la falta de cobre en la células de pulmón de cerdo.

Kitamura, et al (1987) en su trabajo también describe alteraciones ultraestructurales, causadas por glicerol administrado tanto por vía subcutánea como oral, este autor menciona que por la vía subcutánea el glicerol induce inicialmente edema citoplásmico con destrucción de la membrana de retículo endoplásmico y subsecuente hiperplasia de retículo endoplásmico liso en la célula de Clara. Menciona que una posible explicación es atribuida al efecto inhibitorio que causa el glicerol sobre el Na^+ , K^+ , - ATPasa y en parte a las alteraciones sobre membranas. Propone también que un incremento de las crestas mitocondriales sugiere activación de las funciones mitocondriales tales como respiración o fosforilación oxidativa. En el presente trabajo se desconoce a ciencia cierta que es lo que está sucediendo con el efecto bioquímico que causa el CdCl_2 tanto en mitocondria como en retículo endoplásmico rugoso, sin embargo suponemos que se desencadena la síntesis protéica del retículo endoplásmico rugoso provocando hiperplasia del mismo. Se puede relacionar o puede estar apoyado por los trabajos de Kitamura et al (1987) y Richmond et al (1993), pensando en que tal vez alguna de las posibilidades mencionadas sea el caso de las alteraciones encontradas en el presente trabajo.

Mucho más hay que estudiar para conocer las acciones bioquímicas que produce el cadmio y así pensar en posibilidades preventivas de daño.

7. CONCLUSIONES.

Se pudo comprobar que el modelo experimental de inhalación es el adecuado, ya que se encontraron alteraciones morfológicas bronquiolares que nos habla de una importante vía de exposición a la que el ser humano está expuesto constantemente.

La célula de Clara es más sensible al daño causado por la inhalación de cloruro de cadmio en comparación a la célula ciliada, es decir, las células del bronquiolo no respiratorio son más sensibles al efecto del cadmio en relación a la concentración inhalada.

Los cambios morfológicos en las células bronquiolares son más evidentes cuando la dosis de cadmio utilizada es más elevada; esto confirma que con la concentración mayor (0.012 M de CdCl_2) el daño más severo aparece más rápidamente que con la concentración menor (0.006 M CdCl_2), lo que indica que en este modelo hay un efecto dosis respuesta.

La lesión bronquiolar podría ser más evidente utilizando métodos bioquímicos y moleculares, para entender de que manera esta penetrando a sistemas metabólicos, y por lo tanto en que sitios enzimáticos específicos causa daño el CdCl_2 .

Ya que este metal se encuentra en el aire de los grandes centros urbanos, es importante continuar el estudio de la toxicología del cadmio inhalado por las implicaciones, no sólo locales (a nivel de aparato respiratorio), sino sistémicas, ya que la vía inhalada es una fuente importante de ingreso de contaminantes al torrente circulatorio.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Amdur M. O., Doull J. y Klaassen J. 1991. Toxicology. Pergamon press. USA. pp 1033.
- Borysenko, M. Borysenko J., Beringer Th., Gustafson A. (1985). Histología Funcional. Limusa. México. 281 pp.
- Bravo A.H., Echeverría R.S., Jardon R.T. (1989). Partículas Suspendidas en la Ciudad de México. Memorias. "Reunión Sobre Salud y Ambiente en la Ciudad de México. Secretaría de la Defensa Nacional. 71-79 pp.
- Burgos, R.A. (1986). Partículas Suspendidas. Información Científica y Tecnológica. Vol.8, no.115. México. 22-23 pp.
- Campos H. (1987). Los metales pesados, su contaminación y sus efectos tóxicos. Contaminación Ambiental, Medellín, Colombia, 9(17), p.63-70.
- Charles G.P., Dallas M.H., y Alan R.B. (1991). Clara Cells. The Lung. Scientific foundations (R.G. Crystal, J.B. West et al ed) Raven press. New York. 215-228 pp.
- Cormack, D.H. (1986). Fundamentos de Histología. Harla. México 449 pp.
- Early J.L., Nonavakere V.K., y Weaver. (1992). Effect of cadmium and/or selenium on liver mitochondria and rough endoplasmic reticulum in the rat. Toxicology Letters, 62, 73-83.
- Espinosa, A. H. (1989) Influencia de ocho elementos químicos en la respuesta inmunitaria. Tesis licenciatura. Fac. Química UNAM. 105-133 pp.
- Fassett D.W. (1975) Biological effects and occurrence in the environment. Annu. Rev. Pharmacol. vol.15 p 425-35.
- Fawcett, M. D. (1988). Tratado de Histología. Interamericana. México 1026pp.
- Forket P. G. y Troughton K. M. (1987). Airway Injury by Trichloroethylene: A Scanning Electron Microscopic Study. Journal of Pharmacology. 152: 119-125.
- Fortoul T.I. (1984). Mecanismos de Lesión por algunos contaminantes. Cadmio y su acción patogénica sobre pulmón. Tesis de Maestría. Fac. Medicina UNAM 87pp.
- Fortoul T.I., Saldívar O.L., Ponciano R.G., Tovar T.A., Salazar V.D., Salgado C.R., Oliva R.E., y Rivero S.O. (1994). Determinación de Metales Pesados en tejido pulmonar de casos de autopsia y alteraciones inducidas por plomo en La Importancia Biológica de los Iones Inorgánicos. Morelia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

- Galvao, LAC y Corey, G. (1987). Cadmio. Serie Vigilancia IV. Centro Pan. de Ecol. Hum. y Salud. México 1-69 pp.
- Hallenbeck, W. H.; Breen S. P. y Vrenniman G.R. (1993). Cancer Risk Assessment for the Inhalation of metals from Municipal Solid Waste Incinerators Impacting Chicago. Bull. Environ. Contam. Toxicol. vol 51, p 105-170.
- Karrer H.E. (1956). Electron Microscopic Study of Bronchiolar Epithelium of Normal Mouse Lung. Preliminary report. Experimental Cell Research. 10: 237-241.
- Kitamura H., Inayama Y., Ito T., Yabana M., Piegorsch W.W., and Kanisawa M. 1987. Morphologic Alteration of Mouse Clara Cells Induced by Glycerol: Ultrastructural and Morphometric Studies. Experimental Lung Research 12:281-302.
- Kolliker A. (1853). Special Histology of the Lungs. In Manual of Human Histology. Trans. and Ed. G. Busk and T. Huxley. vol. II pp. 160-180.
- Ladislao, U. (1986). La olla sucia del Valle de México. Información Científica y Tecnológica. Vol. 8, no. 115. México. 36-37 pp.
- Landsberger S., Larson, S. and Wu D. (1993). Determination of Airborne Cadmium in Environmental Tobacco Smoke by Instrumental neutron Activation Analysis with a Compton Suppression System. Anal. Chem. 65, p 1506-1509.
- Livett E. A. 1992. Heavy Metal Pollution the Atmosphere. Encyclopèdia or Earth System Science, vol. 2 ,507-18.
- Murthy, R.C. and Holovack, M.J. (1991). Ultrastructural changes in rat lung exposed to combinations of cadmium, zinc, copper and nickel. J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 23 (2) 289-293 pp.
- Nemery, B. 1990. Metal toxicity and the respiratory tract. Eur. Respir. J. 3, 202-219 pp.
- Niden A. H. (1976). Bronchiolar and Large Alveolar Cell in Pulmonary Phospholipid Metabolism. Science. 158: 1323-1324.
- Ord, M.J., Bouffler, S.D. and Chibber, R. (1988). Cadmium induced changes in cell organelles: and ultrastructural study using cadmium sensitive and resistant muntjac fibroblast cell lines. Arch. Toxicol. 62: 133-145 pp.
- Ramírez, I.V. (1989). Estado actual de la contaminación del aire en la ciudad de México. Memorias. " Reunión sobre salud y ambiente en la ciudad de México". Escuela Médico Militar. 45-60 pp.
- Richmond V.L. and Chi E.Y. (1993). Ultrastructural observations in copper-deficient guinea-pig lung cells. Int J.Exp. Path. 74:133-143.

- Rivero, S.O. (1988). Neumología. Trillas. México. 366 pp.
- Saldivar, O. L., Fortoul, T.I., Salazar, D., Tovar, A., Ponciano, G., Barrios, R., y Rivero, O. (1993). Lung tissue as marker of metal pollution in the air; A comparative study between the 50's and the 80's. A joint United States- México conference fate, transport and interactions of metals.
- Saldivar de R.L., Luna, M., Reyes, E., Soto, R., and Fortoul, T.I. (1990). Cadmium determination in Mexican produce tobacco. *Envir. Res.* 55, 91-96 pp.
- Sedman R. M. and Esparza J. R. (1991). Evaluation of the Public Health Risks Associated with Semivolatile Metal and Dioxin Emissions from Hazardous Waste Incinerators. *Environmental Health Perspectives.* 94: 181-187.
- Smith, P., Heath, D., and Moosavi, H. (1974). The Clara Cell. *Thorax.* 29, 147. 174-163 pp.
- Sampson C.E., Chichester C. O., Hayes J. A., and Kagan H. M. (1984). Alterations in collagen Biosynthesis and in Metallothionein in Lung of Rats Acutely or Repeatedly Exposed to Cadmium Chloride Aerosol. *Am. Rev. Respir Dis.* 129:619-624.
- Suárez, B.G. (1991). Análisis de la calidad atmosférica en la ciudad de México. *Información Científica y Tecnológica.* Vol. 13 no. 173. México. 36-40 pp.
- Trigo F. J. y Mateos A. (1990). Patología Veterinaria. UNAM. Mexico. 379 pp.
- Tsalev D. L.; Zaprianov Z. K.; (1984). Atomic Absorption Spectrometry in occupational and environmental health practice. Analytical aspects an health significance vol.1 CRC Press, Inc. Florida 106-112 pp.
- Wanner H.U. (1993). Effects of atmospheric pollution on human health. *Experientia* 49 p 754-8.
- Young S.L.; Fram E. K and Randell S. H. (1986). uantitative Three-Dimensional Reconstruction and Carbohydrate cytochemistry of rat Nonciliated Bronchiolar (Clara) Cells. *A.M. Rev. Respir. Dis.* 133: 899-907.