



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA



EFFECTOS DEL PLOMO SOBRE ALGUNOS ASPECTOS  
DE LA RESPUESTA INMUNE EN UN MODELO  
EN RATA.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO  
P R E S E N T A N  
AGUILAR HERNANDEZ JOSE ARTURO  
CORTES CORTES MARTHA JANETH

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

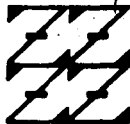
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

3  
20  
U N A M  
FES  
ZARAGOZA



LO HUBIERA SÍ  
DE NUESTRA DEFLECCIÓN

EFFECTOS DEL PLOMO SOBRE ALGUNOS ASPECTOS  
DE LA RESPUESTA INMUNE EN UN MODELO  
EN RATA.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**  
P R E S E N T A N  
**AGUILAR HERNANDEZ JOSE ARTURO**  
**CORTES CORTES MARTHA JANETH**

FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1995.

**DIRECTOR DE LA TESIS**

**DR. RUBEN MARROQUIN SEGURA.**

**ASESOR DE TESIS**

**M. EN C. MARTHA MERCEDES GARCIA BURCIAGA**

**PRESIDENTE DR. RUBEN MARROQUIN SEGURA**

**VOCAL M. C. MAURILIO FLORES PIMENTEL**

**SECRETARIO Q. F. B. MA. MERCEDES ZAMUDIO DURAN**

**SUPLENTE Q. F. B. YOLANDA FLORES CABRERA**

**SUPLENTE Q. F. B. REYNA MELGAR MORENO**

## **A NUESTROS PADRES**

**Que nos han sabido guiar por el buen camino  
de la vida, así como el gran apoyo recibido en  
la culminación de uno de nuestros más grandes  
anhelos.**

**A nuestros hermanos y abuelos  
con mucho cariño.**

## INDICE

	PAG.
1. INTRODUCCION	1
2. FUNDAMENTACION DEL TEMA	2
2.1. Propiedades quimicas	2
2.2. Fuentes de contaminación	2
2.3. Toxicocinetica	3
2.3.1. Absorción y distribución	3
2.3.2. Dosis mortal	3
2.4. Efecto del plomo en el sistema hematopoyetico	3
2.5. Organos afectados por el plomo	4
2.6. Efectos indeseable por el plomo	4
2.7. Inmunosupresion por plomo	5
2.8. Efecto del plomo sobre el interferón	5
2.9. Efecto del plomo sobre las inmunoglobulinas	6
2.10. Nefrotoxicidad del plomo	7
2.11. Signos y sintomas por envenenamiento por plomo	7
2.12. Antagonismo y sinergismo del plomo	7
2.13. Hemaglutinación	8
2.14. Complemento CH 50	8
2.15. Células formadoras de placa (JERNE)	8
2.16. Biometria hematica	8
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
4. OBJETIVOS	10
4.1. Objetivo general	10
4.2. Objetivos especificos	10
5. HIPOTESIS	11
6. CARACTERISTICAS Y CRITERIOS DEL ESTUDIO	12
7. MATERIAL Y EQUIPO	13

<b>8. DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>15</b>
<b>9. RESULTADOS</b>	<b>21</b>
<b>10 DISCUSION DE RESULTADOS</b>	<b>42</b>
<b>11. CONCLUSIONES</b>	<b>44</b>
<b>12. REFERENCIAS</b>	<b>45</b>



## INTRODUCCION

En México como en muchos otros países existe cierta exposición de sus habitantes al plomo y la cantidad de este metal en el ambiente puede variar de un lugar a otro dependiendo de la actividad industrial y de las necesidades automovilísticas que se presentan en diferentes zonas urbanas. Sin embargo los grupos de mayor riesgo son los adultos expuestos por sus actividades laborales, ambiental y los niños menores de 5 años donde el metal se absorbe con mayor facilidad.

Se han realizado estudios biológicos y fisiológicos tanto en animales de experimentación como en humanos, sin embargo los estudios sobre aspectos inmunológicos son escasos por lo que se realizó el siguiente trabajo.

Inicialmente se diseñó un modelo de intoxicación de 30 días, que nos permitiera cierto grado de daño ( por ejemplo: anemia ), pero que la mayoría de los animales de prueba vivieran. Para lo cual se intoxicaron ratas Wistar macho, con una dosis diaria de 20 mg/kg de peso via intraperitoneal durante un mes. Los resultados mostraron que la actividad hemolítica del complemento no se encuentra significativamente alterada por el plomo, al igual que la hemaglutinación y células formadoras de placa, no se puede decir lo mismo de los parámetros celulares de la biometría hemática, los cuales mostraron una severa anemia mientras que la cuenta de leucocitos no se ven afectados por el tratamiento con plomo. También se registro el peso de los animales como de algunos órganos en donde se presentan diferencias con los animales testigos.

## FUNDAMENTACION DEL TEMA.

El plomo es un elemento natural de la corteza terrestre en donde se encuentra principalmente como sulfuro (también conocido como galena), en concentraciones de 16 ppm, por tal razón es normal encontrarlo en la tierra, agua, plantas, alimentos y aire. La exposición natural al plomo ocurre en el hombre desde el momento de su concepción, ya que se ha demostrado que tanto el óvulo como el espermatozoide lo contienen y que la madre, a lo largo del embarazo, lo transmite al feto a través de la circulación placentaria (Montoya 1992).

### PROPIEDADES QUIMICAS

Muchas sales inorgánicas de plomo tienen el estado de oxidación de +2 y otras +4. La solubilidad en agua es escasas o nula, excepto para el acetato, nitrato y cloruro (Stokinger 1981).

### FUENTES DE CONTAMINACION

En el momento actual, son múltiples las fuentes del metal, que están contaminando al ambiente y a partir de las cuales se puede producir la intoxicación, también conocida como saturnismo o plumbismo; las más importantes son :

1. Producción minera, fundición y refinamiento.
2. Recuperación secundaria.
3. Manufactura de acumuladores y placas para los mismos.
4. Fabricación de balas, municiones y linotipos.
5. En la industria química en recipientes para ácidos fuertes o de evaporación.
6. En la elaboración de protectores contra la radiación y barreras contra el ruido.
7. Manufactura de pipas, cisternas, cubiertas de techo, tubos y cables.
8. Aleaciones metálicas por ejemplo: con antimonio, estaño o cobre.
9. En la fabricación de pinturas, barnices y pigmentos como el litargirio, sulfato, cromato, etc.
10. En la manufactura de algunos insecticidas (arsenato de plomo) y ciertos plásticos (como el borato).
11. En la elaboración de cristales duros, esmaltes vítreos y cristales finos.
12. Como antidetonante en las gasolinas.

13. En la elaboración de la loza "vidriada" siendo un riesgo para los que la fabrican como para los que consumen alimentos en ella.

14. En talleres caseros clandestinos para la recuperación y fundición del plomo; la destilación ilícita de radiadores de automóviles da lugar a una bebida conocida como "moonshine", que causa encefalopatía en adultos.

15. En la elaboración de compuestos inorgánicos (óxidos) y orgánicos (tetraetilo).

En México se utiliza el asarcón, polvo rojo con supuestas propiedades medicinales para el tratamiento de diferentes padecimientos gastrointestinales; el análisis de este polvo, ha demostrado que se trata de tetróxido de plomo, en concentraciones hasta del 97% (Montoya, 1992).

## TOXICOCINETICA.

### ABSORCION Y DISTRIBUCION.

La población en general está expuesta a sufrir los efectos adversos del plomo, sin embargo, los grupos de mayor riesgo son los adultos expuestos laboralmente al metal y los niños menores de 5 años. El plomo se absorbe principalmente por inhalación e ingestión. La mayor concentración del metal se ha encontrado en el hígado, riñones y aorta. Después de un tiempo variable de almacenamiento transitorio en los tejidos, en una segunda etapa, el plomo corporal se redistribuye concentrándose alrededor del 90 al 95% en la matriz mineral del esqueleto. En ambas etapas parte del plomo absorbido se elimina por orina y heces.

### DOSIS MORTAL

La dosis mortal del plomo absorbido se calcula en 0.5 g, la acumulación y la toxicidad aparecen si se absorben más de 0.5 mg al día, la vida media del plomo en los huesos es de 32 años y en riñón es de 7 años (Dreisbach, 1984).

### EFFECTOS DEL PLOMO EN EL SISTEMA HEMATOPOYETICO.

La anemia del saturnismo se debe a dos causas fundamentales: alteraciones en la síntesis del grupo prostético hemo y por incremento en la destrucción de los eritrocitos debido a la fragilidad osmótica de los mismos.

El hemo es el componente de la hemoglobina que transporta el oxígeno. Su formación se lleva a cabo siguiendo varios pasos, cada uno de los cuales es catalizado por una enzima. El plomo muestra afinidad por los grupos sulfhidrilo (-SH) de varias de estas enzimas en su sitio de acción, de lo que resulta su inhibición con el incremento subsecuente de los productos precursores y la dificultad de incorporar el hierro en el hemo (Montoya, 1992).

## **ORGANOS AFECTADOS POR EL PLOMO.**

Los efectos tóxicos más graves son el resultado de la acción del plomo sobre el encefalo y el sistema nervioso periférico, las cifras del plomo en encefalo e hígado pueden ser de 5 a 10 veces las cifras sanguíneas.

En envenenamiento agudo, los hallazgos patológicos incluyen inflamación de la mucosa gastrointestinal y degeneración de tubulos renales; en la intoxicación crónica con plomo, ocurren edema cerebral y degeneración de los nervios y células musculares. Puede haber infiltración celular alrededor de los capilares y arteriolas. El hígado y riñones muestran cuerpos de inclusión intranucleares (Dreisbach, 1984).

## **EFFECTOS INDESEABLES DE AGENTES QUIMICOS SOBRE EL SISTEMA INMUNE**

La interacción del tejido linfoide con agentes químicos del medio ambiente y/o fármacos pueden alterar el equilibrio del sistema inmune, resultando ocasionalmente cinco tipos de efectos indeseables:

1. Inmunosupresión.
2. Proliferación incontrolada (leucemia, linfoma, etc.).
3. Alteración en los mecanismos de defensa del huésped contra patógenos y neoplasias.
4. Alergias.
5. Autoinmunidad.

Los métodos tradicionales en la evaluación de la seguridad de agentes tóxicos no incluyen al sistema inmune como órgano blanco por la exposición crónica o subcrónica a algunos fármacos o compuestos químicos, sin embargo han encontrado alteraciones histológicas y/o de peso en órganos linfoides; además de cambios cuantitativos en la cuenta y diferenciación de leucocitos periféricos; disminución celular de tejido linfoide y aumento en la susceptibilidad a infecciones por organismos oportunistas, lo cual puede reflejar inmunotoxicidad potencial en animales expuestos a agentes químicos en dosis tales que otro tipo de toxicidad no se manifiesta. También se ha observado un incremento en la incidencia de alergias y autoinmunidad por exposición a ciertos químicos y fármacos en humano y animales (Casarett, 1991).

## INMUNOSUPRESION POR PLOMO

La exposición sistémica a metales puede afectar adversamente al sistema inmune y alterar la resistencia del huésped a agentes infecciosos y tumores (Koller, 1979,1980; Dean et. al. 1982; Lawrence, 1975). La supresión de la resistencia del huésped al reto con agentes infecciosos es entre las observaciones reportadas la más consistente en inmunotoxicidad inducida por metales. Varios estudios demuestran el daño del plomo a la resistencia del huésped mediada por anticuerpos y a la inmunidad mediada por células.

Los ratones inyectados con nitrato de plomo por vía intraperitoneal durante treinta días y subsecuentemente retados con la bacteria *Salmonella typhimurium* aumentaron significativamente la mortalidad en comparación con los controles (Hemphill et al., 1971). Resultados similares fueron observados en ratas expuestas a plomo por vía intravenosa y retadas con *Escherichia coli* (Cook et.al., 1975). En estos dos estudios, el plomo puede interferir en la supresión o desintoxicación de la endotoxina resultando la muerte. En otro estudio, ratones expuesto oralmente al plomo por cuatro semanas y retados con listeria a 48 y 72 horas, consecutivamente (Lawrence, 1981). La dosis más alta de plomo puede causar inhibición bactericida temprana significativamente más efectiva que ha dosis medias y altas siendo en estas, que se produce una mortalidad al 100% por reto de la bacteria en 10 días.

## EFFECTO DEL PLOMO SOBRE EL INTERFERON.

La exposición a plomo también incrementa la susceptibilidad del huésped a infecciones virales. Gainer (1977) observo que en los ratones a los que se les administro el plomo en agua para beber por dos semanas, se incremento significativamente la mortalidad por encefalomioocarditis (EMC) por reto viral. Se tiene especulado que el incremento de susceptibilidad de ratones tratados con plomo a reto viral puede ser debido a disminución de la capacidad de estos animales a desarrollar una respuesta inmune o a producir interferón (IFN). Estudios por Gainer (1977) indican que el ratón expuesto a plomo no inhibe la acción antiviral del IFN in vivo o in vitro, aunque en apariencia existe supresión de la producción de IFN viral in vivo. Blakeley et. al. (1982) encontraron que ratones expuestos ha acetato de plomo en el agua para beber producen cantidad similar de IFN que los controles cuando ambos son tratados con tirolina, inductor del IFN viral.

## EFFECTO DEL PLOMO SOBRE LAS INMUNOGLOBULINAS.

Alteraciones en la actividad mediada por anticuerpos también son reportadas en roedores expuestos a plomo. La reducción del título de anticuerpos en estos animales explica la disminución de la resistencia del huésped a agentes infecciosos, desde entonces anticuerpos específicos pueden neutralizar directamente el virus, actividad del complemento e incremento de la opsonización de la fagocitosis; el plomo tiene poco efecto sobre los niveles séricos de inmunoglobulinas en conejos. En niños con más de 40 ug de plomo por 100 ml. de sangre (Reigart and Garber, 1976), o en individuos con exposición crónica al plomo (Ewers et. al., 1982; Kimber et. al., 1986).

Los efectos adversos del plomo sobre la inmunidad humoral pueden deberse a interferencia con el proceso antígeno-macrófago o presentación de antígeno por los linfocitos, mas bien al efecto del plomo sobre los linfocitos B.

Los mecanismos de la inducción de toxicidad por plomo sobre células linfoides son complejos. El plomo es muy parecido a otros metales, su gran afinidad por los grupos sulfhidrilo subcelulares así como el efecto inmunomodulador sobre células del sistema inmune puede involucrar asociación con lípidos de membrana e intracelulares, importantes en la activación, proliferación y diferenciación de linfocitos. El estudio de Blakley and Archer, 1982 apoya la hipótesis porque el efecto inhibitorio del plomo fue superado por un agente exógeno de tiol.

En años recientes se ha estudiado el efecto del plomo sobre proteínas séricas. Khanna R.; Johri G. N: (1991), realizaron estudios en ratones tratados con nitrato de plomo y retados subsecuentemente con huevos de *Hymenolepis nana* (1000 huevos), los cuales fueron comparados con controles, el decremento de los valores de beta y gamma globulinas a lo largo de todos los grupos experimentales con una alta recuperación de gusanos indica la supresión de la respuesta inmune humoral por el plomo, encontrándose que un tratamiento con plomo por 45 días, previene de mas efectividad en la supresión de la respuesta inmune.

El efecto del cloruro de plomo y del bicloruro de cadmio sobre la Ig G in vitro producida por linfocitos humanos fué investigada, donde después de 7 días en cultivo el plomo adicionado en un rango de exposición humana (207 a 1035 ug/L) incrementa significativamente la producción de inmunoglobulina cuando las células son o no activadas por mitógenos. El efecto es dependiente de la dosis y se relaciona con la medición de plomo en el medio extracelular y en las células, independientemente de la adición del mitógeno alrededor del 2% del plomo adicionado se acumula en las células y se asocia con la fracción nuclear, este descubrimiento sugiere que los efectos del plomo dependen de la distribución en las células (Borella y Giardino , 1991).

El plomo puede ser reconocido como neurotóxico aunque no es razonable dudar de la existencia de caracterización cualitativa, aspectos cuantitativos en el desarrollo de la neurotoxicidad del plomo es más difícil de resolver. La evaluación del riesgo del desarrollo de neurotoxicidad se enfoca en la valoración del riesgo de contacto con el plomo y los niveles de éste alcanzados en sangre (Davis, 1990).

Se han desarrollado también estudios con acetato de plomo administrado sobre ATPasas y fracciones mitocondriales y sinaptosomales en ratones adultos y reduciéndose la actividad enzimática conforme a las dosis e intervalos en el tratamiento de los animales (Bansal , 1989).

## NEFROTOXICIDAD DEL PLOMO

El plomo en dosis crónicas produce en ratas macho disfunción tubular proximal. Esto fue observado por Vyskocil et al (1989) al tratar ratas macho Wisatr con acetato de plomo a diferentes concentraciones por dos y tres meses midiendo en orina de 24 horas glucosa, proteínas totales, LDH, lisozima y beta 2-microglobulinas por un mes, causando elevación significativa del peso del riñón a las diferentes concentraciones (0.5, 1, 2%) en agua para beber; a 0.5% no se observaron cambios en los parámetros urinarios, a la exposición del 1% se observó expresión de beta 2-microglobulina únicamente y al 2% la elevación de la excreción fue generalizada en todos los parámetros determinados. El efecto nefrotóxico del acetato fue excluido por falta de efectos bioquímicos o histológicos del acetato del sodio en testigos.

Pan y Kennedy (1989) realizaron un estudio de distribución de plomo en ratas macho Sprague-Dawley, las cuales fueron tratadas con inyecciones intraperitoneales de acetato de plomo (10 y 20 mg/kg) a intervalos de 1, 2, 8, 12, 16, 20 y 24 semanas, la cuantificación del plomo fue realizada en sangre, plasma filtrado, saliva, orina, heces, cerebro, glándulas salivales, hígado, riñón testículos, fémur y pelo. En el hígado la concentración de plomo varía; en las glándulas salivales y testículos los niveles de plomo fueron bajos; en huesos, riñón y cerebro el plomo se acumula, alcanzándose niveles elevados constantes en huesos y tejidos renales, pero permanece bajo en cerebro.

## SIGNOS Y SINTOMAS DE ENVENENAMIENTO POR PLOMO

Los signo y sintoma en el diagnostico de envenenamiento por plomo son: palidez, pérdida de peso, franca pérdida del apetito, sangre en heces, temblor, disminución de la hemoglobina, insomnio, irritabilidad, etc..

Los efectos por intoxicación con plomo también incluye aberraciones cromosómicas (Tsuchiya 1977; Forni et al, 1980). Aunque no hay evidencia que el plomo es carcinogénico, en altas dosis en animales el riñón es muy afectado (Tsuchiya 1977; USEPA 1980; Stokiger 1981).

Por lo anterior vemos que la toxicidad del plomo sobre aparatos y sistemas se ha estudiado ampliamente, sin embargo hay pocos datos sobre el efecto en el sistema inmune, dicho sistema es de gran importancia debido a las funciones que desempeña, como es la participación en la resistencia a agentes infecciosos, maduración de leucocitos, producción de inmunoglobulinas y vigilancia inmune contra células neoplásicas.

## ANTAGONISMO Y SINERGISMO

El plomo interactúa con un gran número de metales y la detoxificación es usualmente por quelación con etilendiamintetracetato de calcio (EDTA) por vía parenteral por tratamientos repetidos hasta detoxificación.

## HEMAGLUTINACION

Forma simple que involucra la aglutinación de eritrocitos (Ag) por incremento de diluciones de los anti-eritrocitos en suero.

## COMPLEMENTO 50 % HEMOLITICO

La lisis de eritrocitos recubiertos con anticuerpos puede usarse para estimar la actividad de complemento en suero. Cuando el complemento es adicionado a los eritrocitos recubiertos con anticuerpos se produce lisis celular. Como en la curva de 100% de lisis es sigmoidal esto dificulta la determinación de unidades de lisis total de complemento (CH 100) por ello normalmente se define como CH 50.

## CELULAS FORMADORAS DE PLACA

Estas permiten demostrar si las células en estudios son productoras de anticuerpos. Si se coloca una suspensión de células linfoides mezcladas con globulos rojos de carnero y agar o agarosa en una caja de petri y una vez solidificado se cubre con dilución de suero fresco de cobayo (complemento), en caso de que aparezcan pequeñas placas de hemólisis, significara que esas células linfoides son productoras de anticuerpos anti-GRC. Como a la superficie del globulo rojo puede fijarse antígenos y haptenos, la especificidad de la reacción se amplia.

## BIOMETRIA HEMATICA

El resultado del análisis hematológico, que forma lo que llamamos "Biometría hemática" o "Hemograma", es una parte esencial de la descripción clínica de casi todas las enfermedades.

Un número de una distribución normal de las células y una concentración hemoglobinica normal en la sangre tienen tanta importancia como constantes fisiológicas que difícilmente se puede asegurar la ausencia de una enfermedad hasta que no se hayan hecho estas observaciones. La morfología eritrocítica y leucocitaria es el complemento de la biometría hemática, solo a través del examen cuidadoso de un frotis sanguíneo se puede obtener indicios adicionales de la naturaleza de anemia, leucemia, etc...



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La exposición natural al plomo a lo largo de la vida, ha hecho que el hombre mantenga un estado de equilibrio entre la cantidad que el hombre absorbe diariamente, la que almacena en sus tejidos (fundamentalmente en los huesos) y la que excreta; de tal manera que a pesar de la gran toxicidad del plomo, los seres humanos no sufren los efectos adversos. Para que esto ocurra, es necesario que se rompa dicho equilibrio, lo que comúnmente sucede cuando el metal se incrementa en el ambiente como resultado de las maniobras llevadas a cabo por el propio hombre.

El plomo es uno de los metales que más ha utilizado el ser humano desde la antigüedad hasta nuestros días de ahí la importancia de los estudios de toxicidad en México, entre las diferentes formas en que se puede expuesto a este metal, tenemos por ejemplo el riesgo laboral donde los trabajadores se ven obligados a estar en contacto con el plomo considerándose como el grupo de mayor riesgo, también debemos enfocarnos a la población en general que vive en las grandes ciudades y que esta expuesta principalmente a los gases de la combustión de gasolina de automotores entre otros, alcanzándose mayores índices de contaminación en periodos invernales en donde se da la llamada inversión térmica.

Es importante mencionar que la toxicidad del plomo se ha estudiado ampliamente, sin embargo no se ha establecido una relación con las posibles alteraciones que este pueda tener sobre el sistema inmune. Es por ello que en este trabajo se pretende realizar un estudio sobre el comportamiento que presenta el sistema inmune de ratas macho Wistar expuestas a acetato de plomo.

El estudio consiste básicamente en determinar el efecto del plomo en los siguientes aspectos del sistema inmune: hemaglutinación, complemento 50% hemolítico, células formadoras de placa (Jerne), tomando en cuenta que los animales en experimentación serán tratados durante un mes con acetato de plomo (a una dosis de 20 mg/Kg de peso al día), por vía intraperitoneal, se hará registro del peso de los animales cada tres días y al final de este estudio se obtendrá la relación del peso de los diferentes órganos con respecto al peso del animal, comparando todos estos parámetros con el lote testigo, tratado con agua destilada bajo las mismas condiciones (sin plomo). Así también se determinarán algunos parámetros de la biometría hemática como: hematocrito, cuenta de globulos blancos, cuenta de globulos rojos y diferenciación de mononucleares y polimorfonucleares en animales tratados y testigos.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto del plomo en algunos parámetros de la respuesta inmune en ratas macho Wistar de 281g de peso más-menos 27 g, inyectadas con una dosis de 20 mg/Kg/día por vía intraperitoneal y su comparación con los datos obtenidos en las ratas testigos (sin plomo).

### OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Analizar con parámetros estadísticos el efecto del plomo sobre las siguientes determinaciones: hemaglutinación, actividad de complemento (CH 50) y células formadoras de placa.
2. Hacer un estudio estadístico de algunos parámetros de la biometría como son: hematocrito, cuenta de leucocitos, cuenta de eritrocitos y relación de polimorfonucleares y mononucleares.
3. Obtener la significancia estadística en el peso relativo de; hazo, hígado, corazón, pulmón, riñon, cerebro testiculos en ambos lotes.

## **HIPOTESIS**

Si el plomo interfiere con el calcio en varios procesos celulares, además de que su absorción, distribución y almacenamiento en el organismo es similar, entonces esperamos encontrar alteraciones en la determinación de parámetros inmunológicos en los cuales participa el calcio.

## **TIPO DE ESTUDIO**

El estudio es de tipo experimental, ya que se intoxicaron un grupo de ratas con plomo y transversal porque las determinaciones serán en una sola ocasión.

## **CRITERIO DE TODO EL ESTUDIO**

Este es prospectivo, ya que la información se captó siguiendo una metodología establecida.

## **CRITERIOS DE INCLUSION**

Se seleccionaron ratas Wistar macho de 10 semanas de edad, de 254 a 308 g de peso criadas en el mismo bioterio, bajo las mismas condiciones.

## **CRITERIOS DE EXCLUSION**

No se usaron aquellos animales que quedaron fuera del rango de peso y/o edad, que presentaron tumores, infecciones u otra alteración.

## **POBLACION**

Se seleccionaron 45 ratas macho Wistar de 10 semanas de edad, criadas en el mismo bioterio.

## **ANALISIS ESTADISTICO**

Se manejaron los datos mediante un analisis de varianza no parametrica (Kruskal-Wallis), ya que los datos fueron obtenidos en porcentajes principalmente.

## **MATERIAL**

Placas de microtitulación, tipo COOK, de 96 pozos, marca COSTAR USA.

Micropipetas de 50 ul, tipo COOK USA.

Gradillas.

Tubos de 16 X 100, marca PYREX.

Tubos de 13 X 100, marca PYREX.

Pipetas de 1 y 5 ml, marca PYREX.

Pipetas automática de 100 ul, marca GILSON.

Pipeta automática de 200 - 1000 ul, marca BRAND.

Cámaras de Neubauer.

Cubrehemocitometro.

Cajas de petri FALCON, de 40 mm, DILKINSON.

Mechero Fisher.

Boquillas.

Portaobjetos.

Tijeras de disección de acero inoxidable.

Pinzas de disección de acero inoxidable.

Pipetas de thoma de globulos rojos.

Pipetas de thoma de globulos blancos.

Capilares.

Tamiz metálico.

Plastilina.

Matraces Erlenmeyer, marca PYREX.

Matraces aforados de 1 litro, marca PYREX.

Vasos de precipitado, marca PYREX.

Jeringas para insulina.

Pipetas pasteur, marca KIMBLE.

Bulbos de goma.

Celdas espectrofotometricas.

## **EQUIPO**

Agitador vortex, marca GENIZ.

Agitador5 pipetas de thoma ,marca SOL - BAT.

Centrifuga, marca SOL- BAT.

Microcentrifuga, marca SOL- BAT,

Estufa marca RIOSSA.

Espectrofotometro, marca ESPECTRONIC 20.

Baño maría, marca PRECISION CIRCULATING SYSTEM-253.  
Microscopio marca NIKON.  
Balanza analítica, METTLER H80.  
Balanza granataria, marca OHAUS CAP 2610.  
Balanza granataria con jaula, marca OHAUS CAP 2610.  
Potenciómetro, marca SARGENT WELCH SCIENTIFIC COMPANY.

## REACTIVOS QUIMICOS

Aceite de inmersión.  
Acelato de plomo trihidratado, TECNICA QUIMICA.  
Acido acético, J.T. BAKER.  
Acido cítrico monohidratado, J.T. BAKER.  
Acido clorhídrico, TECNICA QUIMICA G.R.  
Agarosa al 0.6 %, BIOXON.  
Agua bidestilada.  
Bicarbonato de sodio, J.T. BAKER.  
Citrato de sodio monohidratado, BAKER ANALYZED G.R.  
Cloroformo, LABORATORIOS LAITZ S.A.  
Cloruro de magnesio, T.Q.  
Cloruro de mercurio, J.T. BAKER.  
Cloruro de potasio, MERCK.  
Cloruro de sodio, PRODUCTOS QUIMICOS MONTEREY.  
Colorante de Wright, SIGMA.  
Etanol, ALCOHOLMEX S.A.  
Fosfato de potasio monobásico, J.T. BAKER.  
Fosfato de sodio dibásico, TECNICA QUIMICA.  
Glucosa, J.T. BAKER.  
Heparina, SIGMA.  
Líquido de Turk (ácido acético al 2%).  
MEM (Medio esencial mínimo), MICROLAB.  
Sulfato de sodio anhidro, J.T. BAKER.  
Trietanolamina, J.T. BAKER.

## REACTIVOS BIOLÓGICOS

Globulos rojos de carnero (GRC).  
Hemolisina 2 U 50 % H, de conejo anti-GRC.  
Ratas macho Wistar  
Suero fresco de cobayo.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

### HEMAGLUTINACION

1. Colocar 50 microlitros (ul) de solución de PBS en cada uno de los pozos de la placa de microtitulación
2. Adicionar 50 ul de suero de rata (previamente descomplementado a 56 grados centígrados por 30 minutos) en el pozo número uno de la placa de microtitulación y se hacen diluciones al doble con los microdilutores hasta llegar al pozo número once de la placa dejando como testigo negativo de la reacción al pozo número doce.
3. Adicionar 50 ul del antígeno (globulos rojos de carnero) a cada uno de los pozos de la placa de microtitulación incluyendo al pozo número doce.
4. Se tapan las placas y se incuban durante una hora a 37 grados centígrados.  
El título correspondera a la dilución mayor en la que todavia exista aglutinación y así se reportarán.

### COMPLEMENTO 50% HEMOLITICO

1. Lavar tres veces en la centrifuga a 1500 rpm durante 5 min. los los globulos rojos de carnero en TBS y preparar una suspensión al 2% en TBS(10 ml).
2. Ajustar la suspensión en una celda del espectrofotometro de la siguiente manera: mezclar 0.6 ml de la suspensión de eritrocitos al 2% y 3.4 ml. de agua destilada. Leer la densidad optica (D.O.) a 550 nm utilizando un blanco de agua destilada. El 100 % de hemólisis debe dar una densidad óptica de 0.5, si no se obtiene esta lectura se corrige el volumen mediante la siguiente ecuación:  $D.O.1 \times V1 = D.O.2 \times V2$  de la cual se despeja  $V2$  y la  $D.O.2$  es igual a 0.5
3. A 10 ml de esta suspensión anterior, se le adiciona un volumen igual de hemolisina previamente titulada (2 U 50% H) en TBS, mezclar bien e incubar a 37 grados centígrados durante 30 min., con agitación frecuente, transcurrido este tiempo, se saca el matraz del baño y de esta manera, tenemos los eritrocitos sensibilizados a una suspensión del 1%

4. Se hacen tres diluciones del suero problema (1:25, 1:50, 1:100) en TBS de la siguiente manera:

- A 0.4 ml de suero + 9.6 ml de TBS (1:25)
- B 5.0 ml de A + 5.0 ml de TBS (1:50)
- C 5.0 ml de B + 5.0 ml de TBS (1:100)

se colocan en baño de hielo 14 tubos (13X100) usando 4 tubos para cada dilución del suero (12 tubos) y dos para los testigos de la prueba.

TUBO	DILUCION	ERITROCITOS SENSIBILIZADOS	TBS
1	1.0 ml	1.2 ml	0.8 ml
2	0.7 ml	1.2 ml	1.1 ml
3	0.5 ml	1.2 ml	1.3 ml
4	0.3 ml	1.2 ml	1.5 ml
T positivo	0.0 ml	1.2 ml	0.0 ml
T negativo	0.0 ml	1.2 ml	1.8 ml

5. Se mezclan los 14 tubos y se incuban a 37°C durante 30 min. con agitación constante.

6. Sacar los tubos y adicionarles a todos un ml. de TBS frío excepto al testigo positivo al cual se le adiciona 2.8 ml. de agua destilada. Agitar los tubos.

7. Centrifugar los tubos a 1500 rpm por 5 min.

8. Leer los sobrenadantes a 550 nm usando como blanco el tubo testigo negativo.

9. Calcular para cada tubo el porcentaje de hemolisis en relación con el testigo negativo (D.O. del testigo positivo para 100% de hemolisis).

#### CELULAS FORMADORAS DE PLACA (JERNE)

1. Se toman las ratas inunizadas previamente por vía intravenosa con 0.2 ml de una suspensión de globulos rojos carnero (GRC) al 10% , 5 días antes y se sacrifican en cámara de éter.

2. Todos los pasos siguientes deben hacerse en hielo.



3. Se extrae el bazo y se coloca en la tapa de una caja de Petri que contenga solución salina (SS).
4. Se lava el bazo con SS para eliminar pelos que pudieran haberse adherido.
5. Se pasa el bazo lavado a la caja de Petri, que contenga 8 ml. de MEM, el bazo es colocado en un tamiz metálico y con un tubo de 13X100 se macera, quedando en el tamiz solo la capsula del bazo.
6. La suspensión se pasa a un tubo de ensaye y se deja sedimentar tres min. el sobrenadante se pasa a tubos limpios y se centrifuga a 1000 rpm por 10 min. en dos ocasiones. Se hacen diluciones 1:15 y 1:30 con MEM, se deben conservar en hielo.
7. Se lavan los GRC en solución salina tres veces y se diluyen 1:10 en MEM.
8. En un tubo de ensaye se mezclan 0.1 ml de la suspensión de células más 0.2 ml de la suspensión de GRC más 2.0 ml de agarosa al 0.6% a 45°C y se homogeniza la suspensión usando agitador vortex. La suspensión se vacía rápidamente a una caja de Petri y se distribuye la agarosa por toda la caja con movimientos circulares, lo anterior debe hacerse rápidamente con el fin de que no se solidifique el agar.
9. Se deja reposar la caja en una superficie lisa hasta que solidifique la agarosa. se incuba a 37°C durante 45 min.
10. Se adiciona a cada caja 2 ml del complemento de cobayo fresco diluido 1:20 en MEM, se distribuye en toda la placa y se incuba a 37°C por 30 min.
11. Se cuenta el número de placas líticas que existieron en la caja.

## BIOMETRIA HEMATICA

### HEMATOCRITO

1. Homogenizar perfectamente la sangre haciendo girar el tubo circularmente
2. Los capilares de vidrio se llenan con sangre hasta dos o tres cuartas partes de su longitud total
3. Sellar el extremo por donde se ha llenado el capilar con plastilina. En todos los casos el sello debe quedar interno y plano en la punta.

4. Colocar en la microcentrifuga los capilares registrandose la posición de cada capilar.
5. Centrifugar a 10,000 - 15,000 rpm durante 5 min.
6. Leer los capilares y registrar el hematocrito.

### CUENTA DE ERITROCITOS

1. Homogenizar perfectamente la sangre.
2. Aspirar la sangre hasta la marca de 0.5 en la pipeta de Thoma de globulos rojos.
3. Limpiar la sangre adherida al exterior de la pipeta con una gasa.
4. Llenar la pipeta hasta la marca de 101 con liquido de Hayem.
5. Agitar la pipeta durante 3 min.
6. Eliminar las cuatro primeras gotas de la pipeta de Thoma, para eliminar el líquido que no contiene hematias.
7. Para cargar la cámara de Neubauer, primero se coloca el cubrehemocitometro sobre está, posteriormente la pipeta de Thoma parcialmente vacía se sujeta como si fuera lapiz. Mediante el dedo indice se controla el flujo de liquido; la punta de la pipeta se coloca en el borde que une el cubrehemocitometro y la cámara. Se disminuye la presión del dedo indice y el líquido pasa entre los dos por capilaridad, hasta que se llena la cámara. No debe haber burbujas y los surcos no deben contener liquido.
8. Se coloca la cámara en la platina del microscopio y se deja reposar durante 3 ò 5 min. para que las células se distribuyan.
9. Utilizando un objetivo de 10X se localiza el cuadro grande central E y se comprueba que las células esten uniformemente distribuidas.
10. Después se pasa al objetico de 40X y se cuentan las células en 5 de los 25 cuadros terciarios situados en el gran cuadro central; es decir los cuatro cuadros terciarios de las esquinas y uno central.
11. Se cuentan las células que tocan la parte izquierda y superior y se excluyen las células que tocan la parte derecha e inferior de la linea limite.
12. Determinar el número de eritrocitos sobre milímetro cubico (recuento de eritrocitos por el factor).

## CUENTA DE LEUCOCITOS

1. Homogenizar perfectamente la sangre .
2. Se aspira con cuidado la sangre hasta la marca 0.5 de la pipeta de Thoma de globulos blancos.
3. Se limpia la parte exterior de la punta de la pipeta con una gasa para retirar la sangre adherida, y se termina de aspirar con el líquido diluyente de Turk, para llenar la pipeta hasta la marca de 11. Así se obtiene una dilución 1:20
4. Se mezcla la pipeta durante 3 min en el agitador para pipetas .
5. Se desechan las primeras 3 gotas de la pipeta, puesto que contienen solo líquido diluyente.
6. Se carga la cámara de Neubauer, procediendo como se describe para el recuento de eritrocitos.
7. Se coloca la cámara en la platina del microscopio y se deja reposar de 3 a 5 min, para que las células se distribuyan.
8. Con el objetivo de poco aumento 10X, se localizan los cuadros secundarios A,B,C y D. La distribución de los leucocitos en los cuatro cuadros de las esquinas debe ser uniforme.
9. Se cuentan los leucocitos en cada uno de los cuadros grandes.
10. La norma para incluir o excluir las células es contar las que tocan la parte superior e izquierda de la línea límite, excluyendo las células que tocan la parte inferior y derecha de dicha línea.
11. Calcular el número de leucocitos sobre milímetro cubico (recuento de leucocitos por el factor).

## DIFERENCIAL

1. Preparar y limpiar los portaobjetos.
2. Homogenizar perfectamente la sangre.
3. Colocar una gota de sangre, aproximadamente a un cuarto de distancia de uno de los extremos de los portaobjetos y situarlos sobre una superficie plana.

4. Para extender la sangre se utiliza el borde fino de otro portaobjetos. El portaobjetos que extiende la sangre se mantiene en un ángulo de  $30^\circ$  aproximadamente con el horizontal. El borde del portaobjetos que efectúa la extensión se desplaza hacia la gota de sangre, esta se extiende rápidamente por capilaridad a lo largo del borde del portaobjetos extensor. Desplazando este en dirección contraria, se realiza una fina extensión porque la sangre sigue por detrás del borde del portaobjetos extensor; las variaciones del grosor de la extensión se consiguen cambiando el tamaño de la gota de sangre, el ángulo del portaobjetos extensor y la velocidad de la extensión.

5. Dejar secar la extensión.

6. Proceder a la tinción con el colorante de Wright.

7. Efectuar el recuento y diferenciación de células (polimorfonucleares y mononucleares).

## **RESULTADOS**

**TABLA No.1 TITULOS DE HEMAGLUTINACION EN RATAS TRATADAS Y TESTIGOS.**

<b>No. DE RATA</b>	<b>TRATADAS</b>	<b>No. DE RATA</b>	<b>TESTIGOS</b>
13	1:256	32	1:32
16	1:256	33	1:16
18	1:128	35	1:32
20	1:128	39	1:32
22	1:128	45	1:32
23	1:256		
24	1:256		

**TABLA No. 2 TABLA DE RESULTADOS DE CELULAS FORMADORAS DE PLACA DE RATAS TRATADAS EN ESTUDIO.**

No. DE RATA	CFP/BAZO	CFP/1X10 <sup>6</sup> LEUC.	LEUC./BAZO
7	272,400	48.82	5.76X10 <sup>6</sup>
13	271,200	27.50	9.90X10 <sup>6</sup>
16	505,200	64.10	7.85X10 <sup>6</sup>
18	132,000	28.27	4.65X10 <sup>6</sup>
20	343,800	54.62	7.02X10 <sup>6</sup>
22	921,600	81.48	11.46X10 <sup>6</sup>
23	486,000	46.36	10.53X10 <sup>6</sup>
24	2'385,600	261.58	9.78X10 <sup>6</sup>
$\bar{X}$	664,725	76.59	8.37X10 <sup>6</sup>
$\bar{V}$	734,881	76.82	2.43X10 <sup>6</sup>

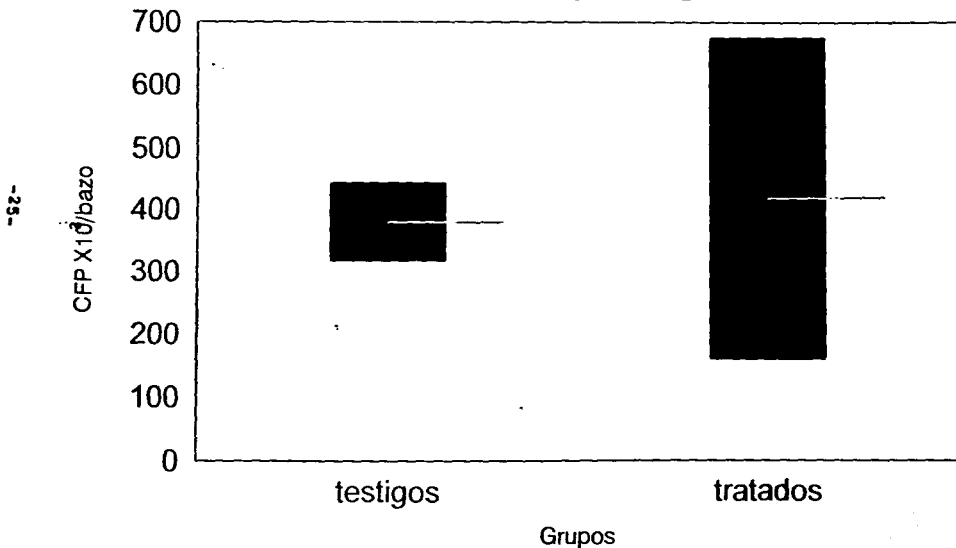
LEUCOCITOS: LEUC.

**TABLA No. 3 TABLA DE RESULTADOS DE CELULAS FORMADORAS DE PLACA DE RATAS TESTIGOS EN ESTUDIO**

No. DE RATA	CFP/BAZO	CFP/1X10 <sup>6</sup> LEUC.	LEUC./BAZO
32	448,800	54.55	8.37X10 <sup>F</sup>
33	343,200	53.40	6.54X10 <sup>F</sup>
35	362,600	48.16	7.53X10 <sup>F</sup>
39	467,400	49.65	9.50X10 <sup>F</sup>
40	325,200	39.52	8.25X10 <sup>B</sup>
43	404,400	55.93	7.26X10 <sup>B</sup>
45	305,400	44.17	6.90X10 <sup>B</sup>
$\bar{X}$	379,571	49.34	7.76X10 <sup>B</sup>
$\sigma$	62,171	5.94	1.01X10 <sup>B</sup>

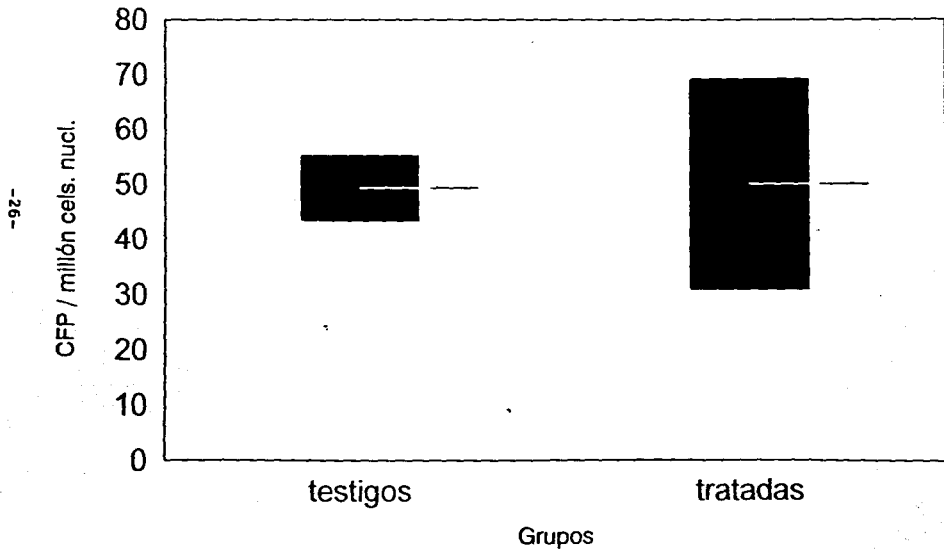


# EFECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.



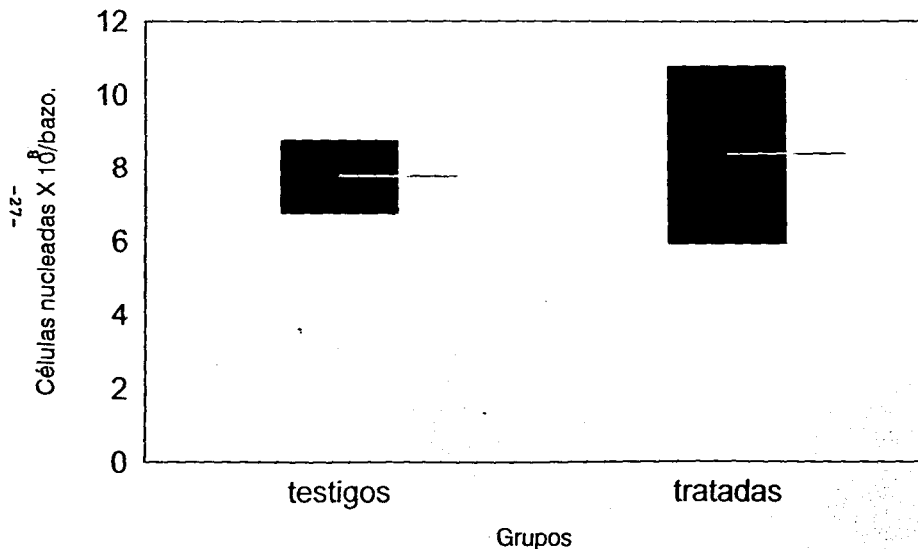
Gráfica 1. Células formadoras de placa 8 animales por grupo P>0.05

# EFECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.



Gráfica 2. Células formadoras de placa 8 animales por grupo  $P > 0.05$ .

# EFEECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.



Gráfica 3. Células nucleadas por bazo. 8 animales por grupo P>0.05.

**TABLA No. 4 TABLA DE RESULTADOS DE COMPLEMENTO DE RATAS EN ESTUDIO DETERMINADAS COMO CH(50)**

TRATADAS		TESTIGOS	
No. DE RATA	U 50% H/ml	No. DE RATA	U 50% H/ml
1	28.57	26	23.81
2	14.71	27	40.00
4	17.86	28	17.24
5	58.82	30	30.30
7	142.82	32	125.00
8	37.04	33	166.67
10	32.26	34	55.56
12	29.41	35	142.86
13	250.00	36	76.92
16	83.33	37	20.83
17	76.92	38	21.28
18	20.83	40	15.38
19	58.82	41	90.91
20	142.86	42	66.67
21	11.11	43	200.00
22	125.00	44	52.63
23	62.50	45	111.11
24	166.67		
$\bar{X}$	75.53	$\bar{X}$	73.95
$\sigma$	65.48	$\sigma$	57.11

UNIDADES 50% HEMOITICAS POR MILILITRO: U 50% H/ml

# EFECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.

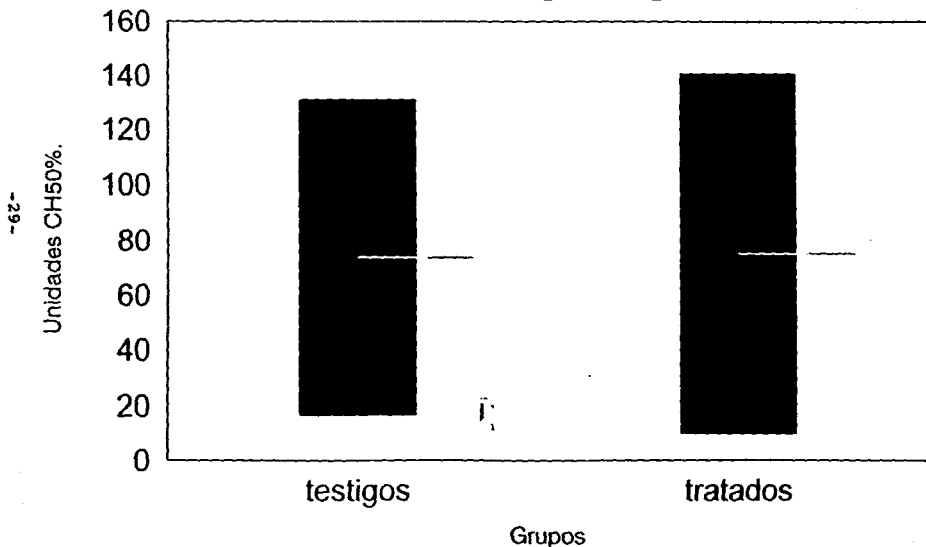


Figura 4. Complemento CH50%. 18 animales por grupo .P>0.05.

**TABLA No. 5    PARAMETROS DE LA BIOMETRIA HEMATICA EN RATAS  
TRATADAS.**

**No. DE RATA      Ht.                      G.R.                      G.B.                      MN                      PMN  
(%)                      (CEL./MM)              (CEL./MM)              (%)                      (%)**

1	34.4	4.21X10 <sup>c</sup>	17,100	87	13
2	38.4	5.88X10 <sup>c</sup>	17,150	80	20
4	39.2	5.08X10 <sup>c</sup>	15,650	90	10
5	39.6	4.34X10 <sup>c</sup>	19,950	91	09
8	36.3	6.08X10 <sup>c</sup>	24,850	95	05
10	32.7	5.70X10 <sup>c</sup>	17,450	66	34
12	32.7	5.45X10 <sup>a</sup>	5,250	85	15
17	33.3	5.15X10 <sup>c</sup>	25,700	92	08
19	37.0	5.82X10 <sup>c</sup>	13,800	77	23
21	42.5	5.37X10 <sup>c</sup>	7,900	93	07
X	36.61	5.31X10 <sup>c</sup>	16,480	85.6	14.4
Σ	3.33	0.63X10 <sup>c</sup>	6,467	08.97	08.97

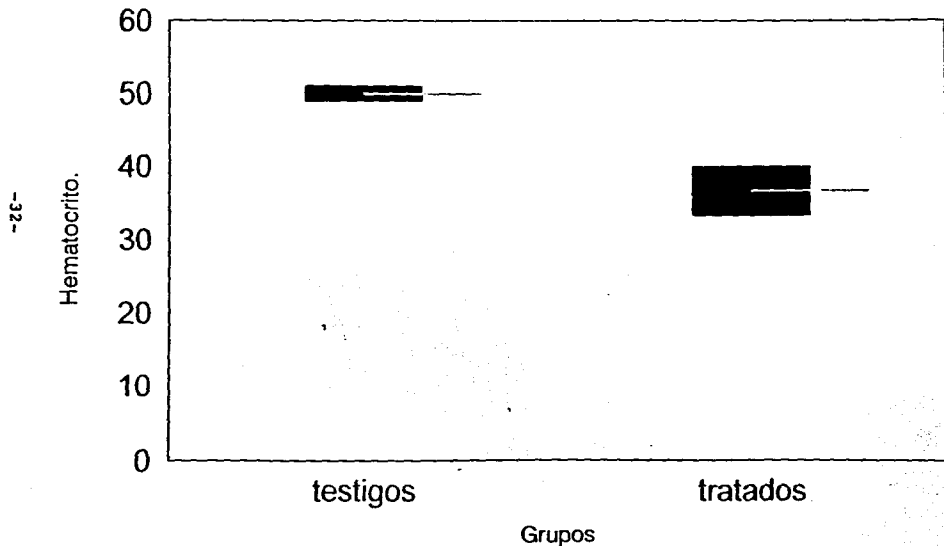
**HEMATOCRITO: Ht    GLOBULOS ROJOS: G.R.    GLOBULOS BLANCOS: G.B.  
MONONUCLEARES: MN    POLIMORFONUCLEARES: PMN**

**TABLA No. 6 PARAMETROS DE LA BIOMETRIA HEMATICA EN RATAS TESTIGO.**

No. DE RATAS	Ht. (%)	G.R. (CEL/mm )	G.B. (CEL/mm )	MN (%)	PMN (%)
26	50.0	$8.94 \times 10^6$	13,500	88	12
27	49.0	$8.05 \times 10^6$	15,050	92	08
28	50.0	$8.38 \times 10^6$	16,500	84	16
30	50.0	$9.05 \times 10^6$	16,350	73	27
36	50.0	$9.39 \times 10^6$	16,000	90	10
37	49.0	$9.18 \times 10^6$	15,000	89	11
38	50.0	$8.56 \times 10^6$	14,600	81	19
41	52.0	$10.05 \times 10^6$	11,650	78	22
42	51.0	$9.95 \times 10^6$	15,650	72	28
44	49.0	$8.95 \times 10^6$	14,250	87	13
$\bar{X}$	50.0	$9.05 \times 10^6$	14,855	83.4	16.6
$\sigma$	0.942	$0.64 \times 10^6$	1,471	07.12	07.12

HEMATOCRITO: Ht. GLOBULOS ROJOS: G.R. GLOBULOS BLANCOS: G.B.  
MONONUCLEARES: MN POLIMORFONUCLEARES: PMN

# EFECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.



Gráfica 5. Hematocrito. 10 animales por grupo.  $P < 0.05$ .



# EFEECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.

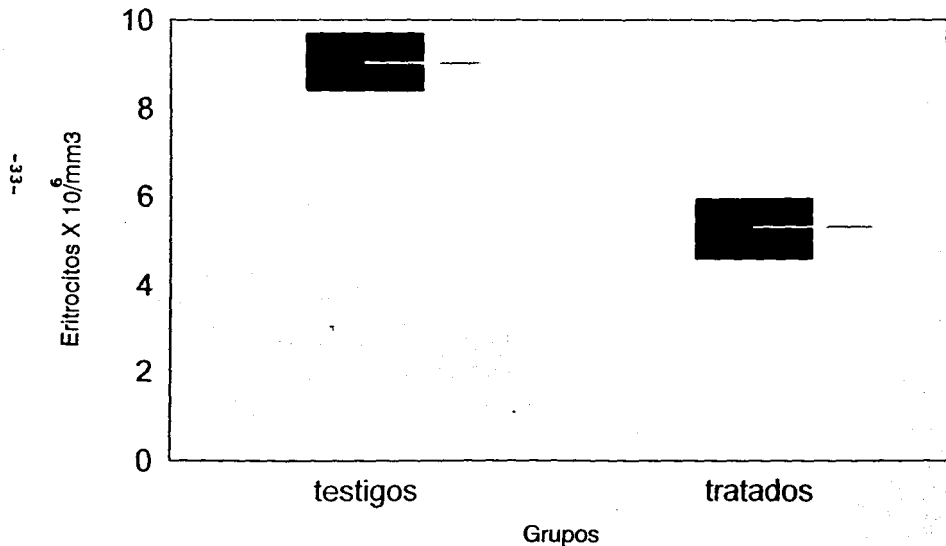
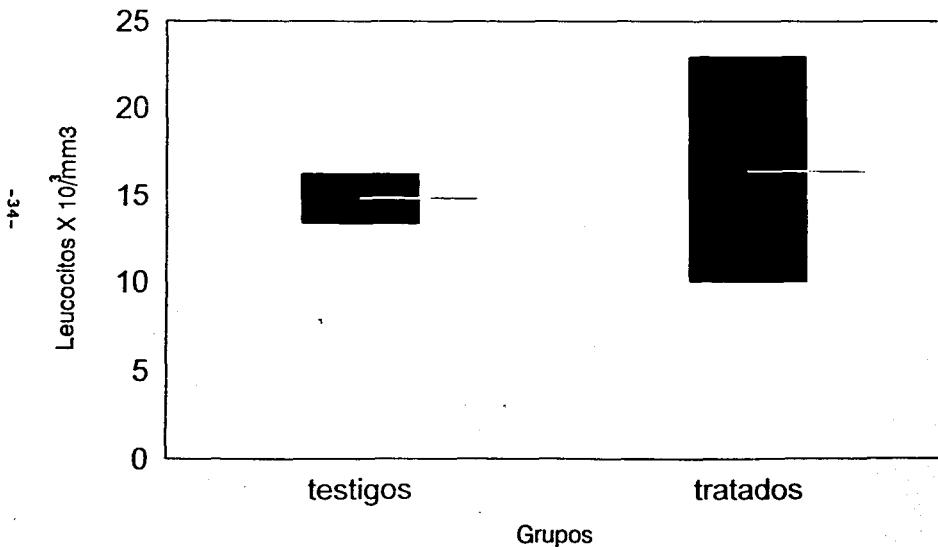


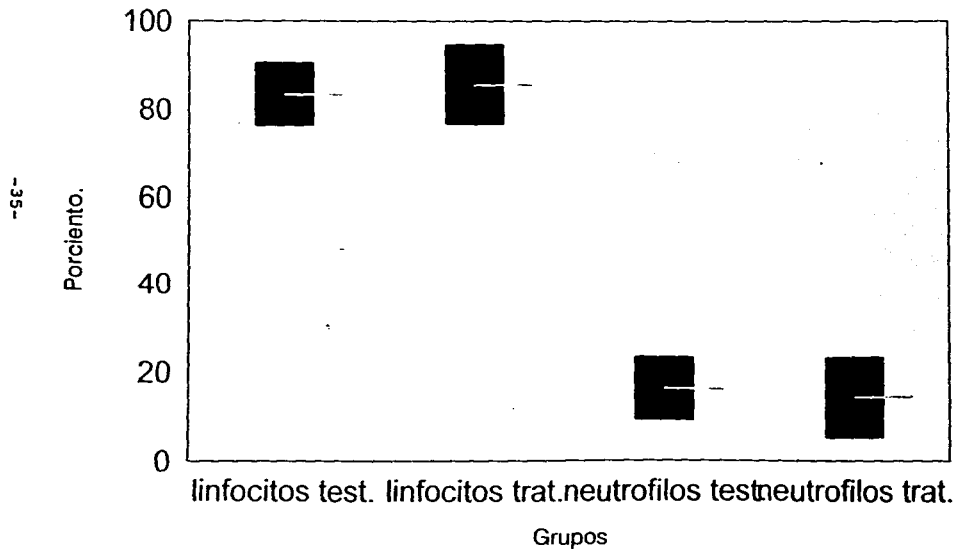
Figura 6. Eritrocitos . 10 animales por grupo .P<0.05.

# EFECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.



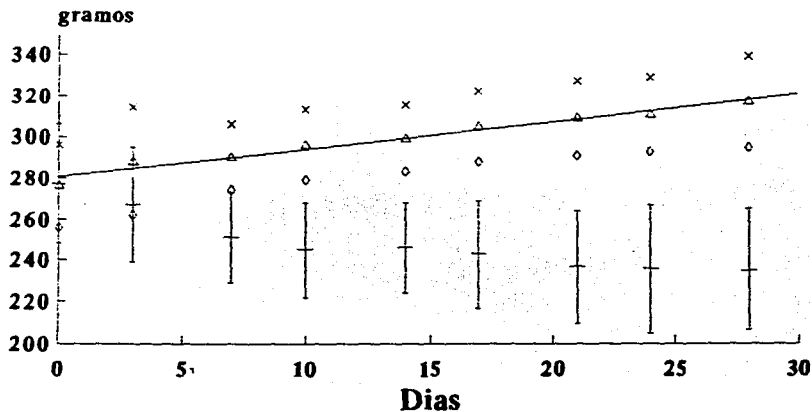
Gráfica 7. Leucocitos. 10 animales por grupo.  $P > 0.05$ .

# EFECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.



Gráfica 8. Linfocitos y neutrofilos PMN. 10 animales por grupo.  $P > 0.05$ .

# VARIACION DEL PESO DE LAS RATAS. Intoxicación subaguda



I alta

I baja

± media plomo

x alta

o baja

— media testigo

acetato de plomo 20 mg/Kg .i.p.

**TABLA No. 7 RELACION PORCENTUAL DEL PESO DEL ANIMAL Y EL PESO DEL ORGANNO EN RATA TESTIGO.**

**No DE RATA**    **HI**        **RI**        **BA**        **PU**        **CO**        **CE**        **TE**  
                   **(%)**        **(%)**        **(%)**        **(%)**        **(%)**        **(%)**        **(%)**

26	3.923	0.640	0.239	0.597	0.356	0.638	0.986
27	3.555	0.600	0.207	0.678	0.322	0.608	0.989
28	3.698	0.614	0.200	0.664	0.318	0.605	0.948
30	4.115	0.683	0.225	0.703	0.360	0.581	0.852
36	3.638	0.650	0.191	0.649	0.343	0.597	0.934
37	3.610	0.543	0.159	0.655	0.293	0.614	0.926
38	3.661	0.627	0.214	0.733	0.300	0.615	0.991
41	3.279	0.641	0.232	0.788	0.350	0.663	1.202
42	3.309	0.603	0.196	0.692	0.342	0.530	0.872
44	3.317	0.566	0.173	0.673	0.248	0.614	0.900
$\bar{X}$	3.610	0.616	0.203	0.683	0.323	0.606	0.960
$\sigma$	0.269	0.041	0.025	0.051	0.035	0.035	0.097

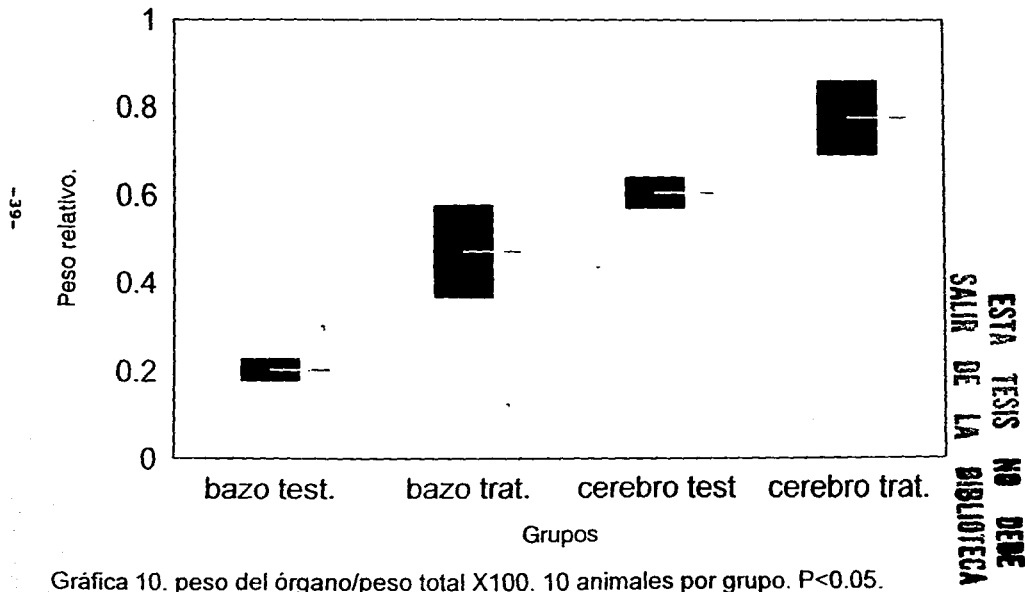
**HIGADO: HI    RIÑON: RI    BAZO: BA    PULMON: PU    CORAZON: CO**  
**CEREBRO: CE    TESTICULOS: TE**

TABLA No.8 RELACION PORCENTUAL DEL PESO DEL ANIMAL Y EL PESO DEL ORGANNO EN RATAS TRATADAS.

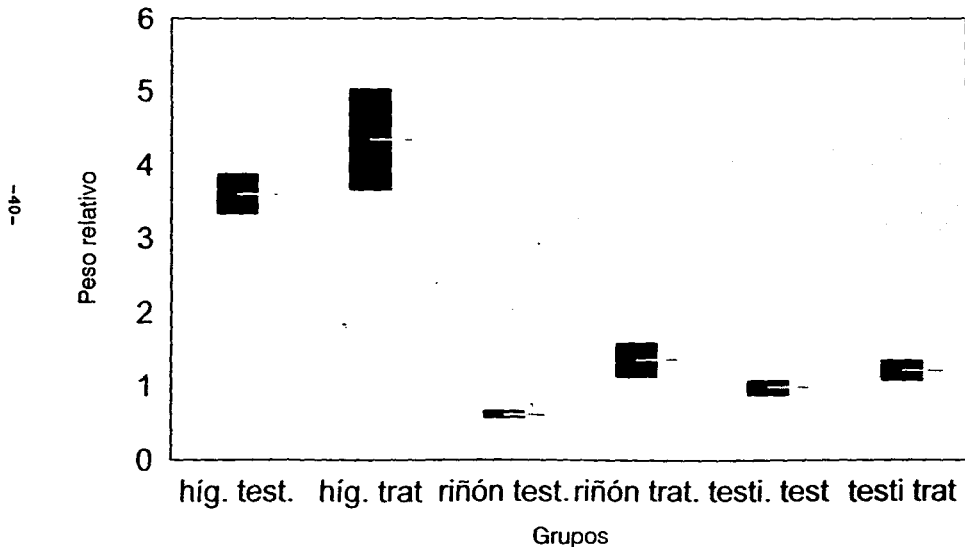
No. RATA	HI (%)	RI (%)	BA (%)	PU (%)	CO (%)	CE (%)	TE (%)
1	4.144	1.700	0.538	0.662	0.357	0.790	1.147
2	4.431	1.158	0.426	0.684	0.379	0.802	1.257
4	5.726	1.267	0.398	0.892	0.352	0.913	1.148
5	4.694	1.304	0.478	0.843	0.400	0.697	1.276
8	3.768	1.243	0.535	0.629	0.318	0.717	1.159
10	4.625	1.661	0.470	0.579	0.315	0.687	1.148
12	4.144	1.278	0.302	0.572	0.303	0.703	1.004
17	4.888	1.626	0.702	0.801	0.444	0.922	1.522
19	3.452	1.090	0.417	0.716	0.307	0.766	1.275
21	3.644	1.181	0.446	0.832	0.401	0.753	1.073
$\bar{X}$	4.352	1.350	0.471	0.721	0.358	0.775	1.201
$\sigma$	0.675	0.224	0.106	0.114	0.047	0.084	0.142

HI: HIGADO RI: RIÑON BA: BAZO PU: PULMON CO: CORAZON  
 CE: CEREBRO TE: TESTICULOS

# EFECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.



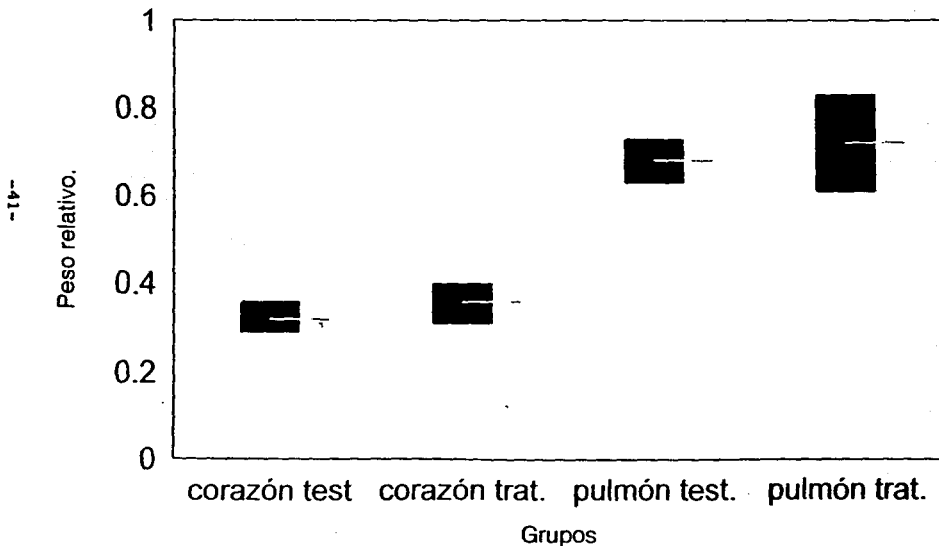
# EFECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.



Gráfica 11. peso del órgano/peso total X100. 10 animales por grupo.  $P < 0.05$ .



# EFECTO DE LA INTOXICACION CON PLOMO.



Gráfica 12. Peso del órgano/peso total X100. 10 animales por grupo.  $P>0.05$ .

## DISCUSION DE RESULTADOS

En la tabla número 1 encontramos los resultados de los títulos de hemaglutinación, los cuales se observan superiores en las ratas tratadas que en las testigos, en una dilución que oscilan entre 1:128 a 1:256 en las primeras y 1:16 a 1:32 en las segundas, notando con esto que la intoxicación con plomo aumenta significativamente el título de anticuerpos anti-globulos rojos de carnero en suero que fueron generados por la inoculación de estos en las ratas por vía intravenosa.

En la tabla 2 y 3 se encuentran los resultados obtenidos de las células formadoras de placa (CFP) en las ratas tratadas y testigo, en ambas tablas la primera columna muestra las CFP obtenidas por bazo, en donde esta muy claro que la varianza en el grupo de animales testigos, aunque si observamos las gráficas 2 y 3 en donde se muestran las células formadoras de placa por millón de leucocitos y leucocitos por bazo nos indica que los grupos de experimentación no tienden a separarse, esto posiblemente dependa de la respuesta biológica de cada individuo ante la producción de CFP todos estos datos tienen un nivel de significación  $p \leq 0.05$  de los valores criticos para la prueba U de Mann-Whitney.

En la tabla 4 y en la gráfica 4 se dan los resultados del complemento hemolítico determinado como unidades 50% hemolíticas, se visualiza que la intoxicación por plomo no altera los estudios estadísticos (prueba U de Mann-Whitney), ni tampoco los parámetros poblacionales como son la media y varianza, por lo que podemos decir que posiblemente el calcio no fue totalmente desplazado por el plomo para activar el complemento o bien para activar el complemento se requiere de un ión divalente que también lo es el plomo y este a su vez activa al complemento y es por ello que no existe alteración alguna, también cabe señalar que el plomo a este nivel de intoxicación desplaza al calcio del sistema óseo, lo que puede incrementar este ión en el sistema sanguíneo.

En las tablas 5 y 6 presentamos los resultados de los parámetros de la biometría hemática, en donde los globulos blancos y la relación de polimorfonucleares y mononucleares no se ven afectados por el plomo, mientras que para los globulos rojos el caso es el contrario, ya que se conoce la acción inhibitoria del plomo sobre ciertas enzimas que actúan en la producción de hemoglobina, dado que el plomo se une a los grupos sulfhidrilo inactivando el sitio de acción de dichas enzimas, es por ello que la producción de globulos rojos no se lleva a cabo y por lo tanto el hematocrito se encuentra disminuido causando con esto una anemia considerable en los animales, lo antes mencionado se puede observar en las gráficas 5 y 6.

En la gráfica número 7 se muestra la dispepsión del número de leucocitos en los animales tratados en comparación con el grupo testigo, mientras que la media en ambos casos presentan gran similitud y tomando en cuenta la prueba U de Mann- Whitney el plomo no afecta significativamente al número de leucocitos, presentandose el mismo fenómeno en la gráfica número 8, en donde no existe alteraciones en las relaciones porcentuales entre polimorfonucleares y mononucleares por la intoxicación por plomo.

En la gráfica número 9 presentamos la evolución de los pesos durante el periodo de intoxicación de los animales, señalando que ambos lotes de animales (tratados y testigos) tuvieron alimento y agua en abundancia. Durante la intoxicación de las ratas con acetato de plomo en una concentración de 20 mg/kg de peso/día por vía intraperitoneal, seis días a la semana durante un mes, observandose una caída del peso corporal inicialmente reportado en estas, mientras que en los grupos de animales testigo el peso fue incrementado. En la fase de intoxicación se observo que los animales tratados presentaron anorexia, ya que los animales testigos terminaban en un periodo mas corto la ración de alimento de la cual se les proveían.

En la gráfica número 12, muestra los órganos que no se vieron afectados significativamente que son el corazón y los pulmones, y en las gráficas 10 y 11 los afectados que son el bazo, cerebro, hígado, riñones y testículos, en donde se observa que los grupos de animales tratados presentan gran diferencia en el peso porcentual de estos órganos (incrementandolo), en comparación con los animales testigos, infiriendose que los animales tratados tienden posiblemente a almacenar el plomo en estos órganos como lo describen P'an and Kennedy en 1989 cuando realizaron el estudio de distribución del plomo en ratas.

## CONCLUSIONES

Este modelo de intoxicación nos demuestra los efectos que ocasiona el plomo no solo a nivel inmunológico, sino también en otros sistemas y órganos como el sistema hematopoyético y órganos como el hígado, cerebro, riñones y testículos. Por lo cual llegamos a las siguientes conclusiones:

1. La intoxicación por plomo incrementa el título de hemaglutinación en las ratas Wistar.
2. El plomo no afecta directamente la cantidad de células formadoras de placa, esto puede deberse a la respuesta biológica de cada individuo.
3. De las conclusiones anteriores se resuelve que el plomo no altera el número de las células formadoras de anticuerpos, pero si la liberación de anticuerpos lo cual incrementa el título de hemaglutinación.
4. El plomo no afecta la actividad hemolítica del complemento en las ratas Wistar.
5. Debido a que el plomo inactiva las enzimas que actúan en el proceso de producción de hemoglobina existe anemia en las ratas tratadas.
6. La intoxicación por plomo causa anorexia y como consecuencia perdida de peso en los animales.
7. El plomo causa un incremento en el peso relativo porciento de los siguientes organos: bazo, cerebro, hígado, riñones y testículos y no afecta significativamente al corazón y a los pulmones.

## BIBLIOGRAFIA

Bansal, M.R., Kaushal, N. "Effect of lead acetate administration on ATPases of brain and its mitochondrial and synaptosomal fractions in adult mice." *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* (1989). 9 (5-6), 411-416.

Borella, P., Giardino, A. "Lead and cadmium at very low doses affect in vitro immune response of human lymphocytes." *Environ. Res.* (1991). 55 (2), 165-177.

Carson, B.L.; Ellis, H.V.; Mc. Cann, J.L. *Toxicology and biological monitoring of methal in humans.* Ed. Lewis Publishers. U.S.A. 1986.

Casarett and Doull's. *Toxicology.* Ed. Pergamon Press Inc. U.S.A. 1991. pp 282-333.

Davis, J.M. "Risk assessment of the developmental neurotoxicity of lead." *Neurotoxicology* (1990). 11 (2), 285-291.

Dreisbach, H.R. *Manual de toxicología clínica.* 5a. edición. Ed. Manual Moderno. México. 1984.

Ellenhorn, M.J.; Bareloux, D.G. *Medical toxicology diagnosis and treatment of human poisoning.* Ed. Elsevier. U.S.A. 1988.

Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos. 4a. edición

Hudson, L., Hay, C.F. *Practical immunology.* 3a. edición. Ed. Panamericana. Argentina. 1989.

Khanna, R., Johri, G.N.; "Lead and immunity:II. Supresion of humoral immune response to hytenolrptis nana in mice" *J. Hyg Epidemiol. Microbiol. Immunol.* (1991). 35 (1), 1-7.

Long, G.J., Rosen, J.F., Pounds, J.G. "Lead impairs the function of osteocalcin by rat osteosarcoma (ROS 17 / 2.8) cell". *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (1990). 106 (2), 270-277.

**Margni, A.R.** *Inmunología e inmunoquímica*. 4a. edición. Ed. Panamericana. Argentina. 1989.

**Marquez, M.J.** *Probabilidad y estadística*. Ed. ENEP-Zaragoza. México. 1978.

**Montoya, C.A.** *Toxicología clínica*. Ed. Mendez Editores S.A. de C.V. México. 1992.

**Pán, A.Y., Kennedy, C.** "Lead distribution in rats repeatedly treated with low doses of lead acetate". *Environ. Res.* (1989). 48 (2), 238-247.

**Stites, D.P.** *Inmunología básica y clínica*. 7a. edición. Ed. Manual Moderno S.A. de C.V. México, 1993.

**Vyskocil, A., et. al.** "Dose-related proximal tubular dysfunction in male rats chronically exposed to lead." *J. Appl. Toxicol.* (1989). 9 (6), 395-399.