

BLANCA GRACIELA AGUILAR GONZALEZ

**HEMATOLOGIA DEL CONEJO EN LA
INTOXICACION EXPERIMENTAL
CON TETRAETILO DE PLOMO**

1



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 esta 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
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS QUIMICAS

HEMATOLOGIA DEL CONEJO EN LA
INTOXICACION EXPERIMENTAL
CON TETRAETILO DE PLOMO

TESIS

QUE PARA SU EXAMEN PROFESIONAL DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
PRESENTA LA ALUMNA
BLANCA GRACIELA AGUILAR GONZALEZ

MEXICO, D. F.
1941.

A mis Padres
con veneración

A mis queridos Hermanos

A mis Tías
carinosamente

A mi maestro

Sr. Químico Farmacéutico

José Suárez

por su bondadosa ayuda

A mis maestros
respetuosamente

A mis compañeros

Sumario:

- I.—Generalidades sobre fabricación y propiedades del tetractilo de plomo.
- II.—Acción toxicológica.
- III.—Datos hematológicos y bibliográficos.
- IV.—Técnica seguida en la intoxicación de los conejos y modo de hacer los exámenes hematológicos.
- V.—Observaciones.
- VI.—Conclusiones.
- VII.—Bibliografía.

Generalidades sobre Fabricación y
Propiedades del Tetraetilo de Plomo

El tetraetilo de plomo no obstante que se conocía desde 1854, no tuvo aplicación industrial durante largo tiempo. Recientemente se empezó a usar para la eliminación del choque o detonación de la combustión interna de las máquinas.

Las tendencias técnicas modernas han sido hacia la fabricación de motores más pequeños, pero que tengan mayor compresión para aumentar su eficiencia.

El petróleo comercial fuertemente comprimido, permite un exceso de $4\frac{1}{2}$ a 5 kilos por cm^2 , pasando este límite, la combustión es explosiva y el motor detona. Para aumentar este límite se sugirió añadir al petróleo compuestos organometálicos solubles en él y que se conocen con el nombre de antidetonantes.

El selenio, telurio, arsénico, antimonio, estaño y plomo, tienen la propiedad de retardar la detonación y atenuar el choque sobreviolento en las paredes de los cilindros y la cabeza del émbolo.

El tetraetilo de plomo tiene un coeficiente mayor que todos los productos antidetonantes, por lo que tiene una acción marcada en suprimir la detonación en una proporción de 1 por 200 000 moléculas de una mezcla combustible de petróleo de lámpara, con aire.

El principio segundo en la fabricación del tetraetilo de plomo, consiste en hacer una liga de plomo y sodio con bromuro de etilo, en presencia de un agente reductor y un catalizador. El producto obtenido es destilado y condensado. Puede ser utilizado como agente reductor el silicio en presencia de agua. Como catalizadores pueden ser usados los que generalmente se utilizan en la reacción de Grignard, tales como los éteres, diaminas primarias, secundarias y terciarias, diencilamina, toluidina, dietilarsina, anilina, piridina, carbasol, etc., siendo la más recientemente usada la piridina.

Tiene por fórmula el tetraetilo de plomo $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$, es un líquido claro, incoloro, su peso específico es 1.92 a 15° C, su punto de ebullición 200° C, es aceitoso, con un olor algo dulce, es volátil.

til a la temperatura ordinaria, insoluble en agua fría o caliente, soluble en alcohol y acetona, miscible con grasas y aceites. Expuesto a la luz del sol se descompone y uno de los productos de descomposición es el trietilo de plomo crudo. Se encuentra en el comercio en forma de un "etilo fluido", se dice que es una mezcla de 60 a 75% de tetraetilo de plomo con un solvente (principalmente un halogenuro alcalino, de preferencia el tricloro-etileno o el etil-dibromuro de etilo, los que son igualmente venenosos). El etilo fluido es añadido al petróleo en la proporción de 1 por 1000 a 1400.

Los solventes propuestos para usar los antidetonantes son: el alcohol puro, éter puro, benceno, xileno, etc., los cuales son usados con la intención de facilitar la eliminación del plomo.

Fallenberg sugirió varios métodos para descubrir el tetraetilo de plomo en el petróleo importado y para investigar la cantidad de compuestos orgánicos de plomo en el petróleo. Los más prácticos son los siguientes:

INVESTIGACION CUALITATIVA. -- Se quema el petróleo que se va a examinar en una lámpara pequeña con mecha. Se pone un tubo de ensaye lleno de agua sobre la flama cerca de 10 minutos, notándose un depósito en la base del tubo. Se disuelve el depósito en ácido acético diluido al 30%, esta solución se trata por una corriente de hidrógeno sulfurado. Un precipitado negro indica la presencia del plomo. De este modo es posible descubrir una parte de plomo en 20 000 partes de petróleo, las que corresponderían a 0.05 mg. de tetraetilo de plomo.

INVESTIGACION CUANTITATIVA. -- a) Método del ácido sulfúrico y el ácido nítrico; se introducen 10 c.c. de petróleo en un matríz kjeldahl con 0.5 c.c. de ácido sulfúrico y 2 c.c. de ácido nítrico concentrado. El matríz se calienta sobre una flama. Después se enfría, se decanta la capa superior y la capa acuosa se diluye con agua. Los contenidos del matríz se evaporan sobre una flama. El sulfato de plomo se separa y se pesa por el método ordinario.

Recomienda el Dr. Fallenberg que se efectúe por centrifugación la separación del precipitado, para evitar la filtración, la que sería difícil en vista de las pequesísimas cantidades de plomo retenidas en el precipitado.

b) - Método del permanganato de potasio y ácido sulfúrico; se introducen en un matraz kjeldahl 10 c.c. de petróleo con 2 c. c. de una solución saturada de permanganato de potasio y 1 c. c. de ácido sulfúrico concentrado, se calienta de 2 a 3 minutos en agua hirviendo, agitándose vigorosamente, entonces se añade bisulfuro de sodio en exceso. El petróleo que flota se separa en un embudo de separación. La parte acuosa restante se lleva de nuevo al matraz kjeldahl y se evapora. Se eliminan los vapores nitrosos y el residuo es trado con agua. El sulfato de plomo permanece insoluble, se separa por centrifugación, lavandose con alcohol, se transfiere a un recipiente tarado, se calcina y se pesa.

En 1925 Ferreri determinó la cantidad de tetraetilo de plomo en el combustible, por descomposición con ácido clorhídrico del agente antidetonante. El cloruro de plomo formado, se puede pesar directamente o si no, transformarlo en sulfato de plomo y pesarlo.

Acción Toxicológica

La gran toxidez del tetraetilo de plomo, se observó en el curso de su fabricación.

En 1878 Harrack determinó que el efecto sistemático del tetraetilo de plomo, es semejante a la acción del trimetilo y trietilo de plomo, confirmando Mason en 1921, señalando como las facetas más importantes que se presentan en la intoxicación: una acción estimulante en el sistema nervioso central, principalmente en la médula, una estimulación marcada en el mecanismo del nervio motor central, evidenciada por temblores, hormigueo y finalmente convulsiones, pero sin pérdida de conocimiento; un gran descenso en la presión de la sangre, aparentemente de origen central, cambios en la respiración, la que se suspende al principio y después es acelerada y profunda, pulsaciones lentas y movimientos peristálticos aumentados con cólicos y diarrea.

Se encuentra el plomo en la orina y heces fecales de los intoxicados con tetraetilo de plomo, presentando además los siguientes síntomas:

1o. - Insomnio, uno de los primeros síntomas con sueño excitado e intranquilo.

2o. - Anorexia, náuseas y vómitos, especialmente en la mañana, con mal sabor que aumenta la aversión al desayuno. Puede haber un ataque de vómito a consecuencia del olor del tetraetilo de plomo.

3o. - Vértigo y dolor de cabeza, pero no muy intenso.

4o. - Debilidad muscular, último síntoma y probablemente debido a la pérdida de sueño y apetito.

Por experimentos en animales se determinó que el tetraetilo de plomo después de contacto prolongado en la piel, produce un efecto corrosivo y necrótico.

Charles Norris y A. O. Getter hicieron autopsias en cuatro casos de envenenamiento agudo. Los casos eran de hombres blancos y jóvenes, quienes murieron en delirio agudo, después de dis-

tintos periodos, 13½ horas, 21 horas, 3 días y 10 horas y 5 días, después de la admisión en el hospital; en los cuatro había una decoloración amarillenta de la piel y zonas hemorrágicas en la médula de los huesos. Tres tenían bronconeumonía hemorrágica, los pulmones semejaban a los de los enfermos de influenza maligna. En uno, sus tejidos estaban muy desecados y en los otros tres había decoloración amarilla de la corteza cerebral y leptomenigitis crónica.

En el cerebro de dos de los cuatro casos, fué aislado un compuesto volátil de plomo. Se analizaron los cerebros, presentando uno 4.25 mg. y el otro 4.77 mg., además se encontró plomo no volátil. Estos fueron los dos primeros hombres que murieron dentro de las primeras 24 horas, en los otros dos no se encontró ningún compuesto de plomo volátil.

El contenido de plomo en el cerebro, fué mucho más que el comunmente encontrado, quizás porque hay una atracción específica del tejido cerebral hacia los compuestos de plomo volátil. La cantidad recorrida fué desde 15.84 mg. hasta 28.18 mg.

En el hígado se encontró una gran cantidad, indicada al atentar la excreción 30.53 mg. a 61.47 mg. En los pulmones fué también algo alta, de 2.25 mg. a 6.71 mg. En los riñones, de 3.48 mg. hasta 10.66 mg.

Los huesos del esqueleto no mostraron un contenido de plomo, comparativamente alto; pero fué excesivo en el cerebro y el hígado.

En todos los órganos incluyendo la sangre se encontró plomo.

En la intoxicación crónica por el plomo, se presenta con frecuencia una anemia, con valor globular disminuido y en general no muy acentuada. La palidez intensa de los obreros que trabajan el plomo o sus derivados, hay que atribuirle, principalmente a un espasmo vascular (Naegeli).

No obstante que son marcadas las alteraciones de la sangre de los intoxicados con plomo o sus derivados, por ejemplo una disminución notable de hemoglobina, el cuadro de anemia perniciosa nunca se ha visto.

Experimentos que se hicieron en perros, demostraron que la aplicación del tetraetilo de plomo en la piel rasurada del abdomen, resultaba una acción directa en el trayecto intestinal, caracterizado

por un cólico de plomo agudo seguido de diarrea, el abdomen dilatado y doloroso cuando se oprimía, después depresión, dificultad de pararse sobre los miembros, coma, convulsiones y muerte.

La necropsia en los perros muertos por agudo envenenamiento, mostró una inflamación de los intestinos grueso y delgado con numerosas úlceras, de 1 a 1.5 cm. de diámetro, éstas se encontraron principalmente en la región de las placas de Peyer, las cuales estaban hinchadas y prominentes.

No hubo cambios en el corazón, pulmones, hígado y bazo; pero una leve congestión en las zonas del riñón. Se hicieron análisis en las excreciones, órganos y huesos y el plomo fue encontrado en la orina y heces, en el esqueleto, intestinos, hígado y pulmones. En el esqueleto fué en donde se encontraron mayores cantidades de plomo.

Datos Hematológicos y Bibliográficos

La sangre de los intoxicados con plomo, sufre varias alteraciones, entre las que se encuentran disminución de hemoglobina y del número de glóbulos rojos, pero éstas alteraciones son desde el punto de vista diagnóstico, de menor importancia que ciertos cambios en los mismos glóbulos rojos, como la policromasia y las granulaciones basófilas.

La policromasia es una alteración de los eritrocitos, en la cual éstos toman más o menos el tono de las soluciones colorantes básicas, mientras que los glóbulos rojos normales son refractarios a dichas soluciones. Tanto la policromasia como las granulaciones basófilas nos ponen de manifiesto elementos jóvenes.

Varios autores basados en muchas experiencias clínicas, creen que las malas condiciones del plasma, jamás determinan policromasia y que los hematíes policromáticos patológicos se deben siempre a la función regenerativa de la médula ósea.

Weindenreich atribuye la policromasia a que se destaca más la membrana celular basófila, al disminuir el contenido de hemoglobina. Sin embargo es muy escasa en la depresión central a pesar de haber ahí dos membranas celulares. En los eritrocitos con desigual repartición de hemoglobina, se observa únicamente la policromasia en las zonas que contienen hemoglobina; por consiguiente se trata de una coloración del estroma.

Schmidt, Widal, Vaquez y Dietrich, con la luz ultravioleta determinan que la policromasia está constituida por una gran cantidad de finísimas granulaciones.

Varios autores suponen que la policromasia, originada por la sustancia nuclear, va sea por expulsión de la misma en la mitosis o por el proceso de disolución nuclear.

En oposición a la mayoría de los autores, Naegeli considera que los hematíes policromáticos no son por regla general, en modo alguno, pobres en hemoglobina, porque la sangre con intensa policromasia en los embriones y anemias, sobre todo las hemolíticas, presentan mucha hemoglobina y elevado valor globular.

Es de gran importancia el hallazgo de eritrocitos con granulaciones basófilas en las anemias graves por el plomo el número de eritrocitos con granulaciones es muy abundante. El punteado basófilo tiene gran importancia porque en ausencia de otros síntomas sería considerado como un aviso y evidencia de envenenamiento latente. El valor de esta indicación es suficiente para confirmar el diagnóstico basado en otros síntomas.

Los eritrocitos después de la fijación, muestran numerosos gránulos y puntas como puntos finos, redondeados o angulosos, que se tiñen intensamente por los colorantes básicos, éstas granulaciones son a veces estrictamente de tamaño bastante considerable.

La naturaleza exacta del material basófilo no se conoce. Se ha descrito recientemente como un lipide derivado de los núcleos de la célula, como un resto del protoplasma primario, como un producto de peróxido de hidrógeno.

También se encuentra punteado basófilo en los tejidos del cuerpo. En el caso de las células rojas de la sangre, es solamente un componente de las células rojas jóvenes y de las patológicas.

En la actualidad está demostrado que los hematias con granulaciones basófilas, como producto de la reacción embrionaria o patológica de la médula ósea, clínicamente revelan una regeneración patológica.

El material basófilo se encuentra en las zonas exentas de hemoglobina por ejemplo en la parte correspondiente a la depresión central cuando la reacción morfológica no se observa ni una granulacion en cantidad alguna tan sólo en la zona hemoglobínica.

Reifend en 1907, el primero que observó las granulaciones basófilas en la eritrocitos con el plomo.

Las granulaciones basófilas son consideradas como características por Semmter, Tschawar, Schmidt, Hamel, Moritz, Embden Schoentfeld, Sellers, etc. en la intoxicación con el plomo, contrario a esto son consideradas por otros autores como no características, porque se han observado en otras enfermedades y en otras formas de envenenamiento y ocasionalmente en la sangre de personas sanas. Linenthal ha dicho que están ausentes en el 50% de los casos de envenenamiento con plomo y Harris en el 80%. Otros mencionan porcentajes menores como Teleky en el 25%, J. Russell en el 27%,

y Lutolawsky en el 17%. Pero no obstante de acuerdo con Naegele, el punteado basófilo se encuentra en las personas sanas, siendo el número de granulaciones muy pequeño, mientras que en las intoxicadas por plomo, presentan frecuentemente un cambio franco que algunas veces es presentado sin acompañamiento de anemia.

Thomas Oliver, no se inclina a atribuir al punteado basófilo el gran valor que le han dado otros autores como vía de diagnóstico. En ciertos casos se presentan síntomas muy marcados de intoxicación por plomo y hay ausencia de granulaciones basófilas.

En los animales aparecen diversas variedades de leucocitos y en realidad casi siempre células linfoides y granulosas en el sentido de Ehrlich, quien fué el primero que estableció una distinción entre gránulos generales que en la serie animal se hallan ampliamente difundidos, como eosinófilos y basófilos, pero que también faltan algunas veces y gránulos especiales que corresponden sólo a determinadas clases. Así el hombre y el mono tienen gránulos neutrófilos, el cobayo anfófilos y el conejo pseudoeosinófilos.

Diversas indicaciones sobre los leucocitos del conejo fueron dadas por los siguientes autores:

Domarus.— R. 4,7-8,4. Hb 70-120. L 3800-13100. Seudoeos. 47-64. Eos. 0-31 Cél. Ceb. 10. Linf. 25-44.

Fritsch.— Glób. roj. Por término medio 5.86. Hb 11.9 gr. en 100 c.c. L. término medio 8910. Linf. 63%. Monoc. 1%. Ps. neutr. 31%. Eos. 2% Cél. ceb. 2%. Plasma 6.4%.

Bushnell y Bangs.— R. 5,99. L. 10975. N. 39. Eos. 1.1 Cél. ceb. 3,58. Linf. 55.

Gruber.— L. 5-14000 término medio. Seudoeos. 37-54. Monoc. 3-12. Eos. 1-2, 1/2. Cél. ceb. 2-10. Linf. 28-44. Algunos mielocitos.

Heineke.— L. alrededor de 9000. Ps. 42-36. Eos. 0,3. Cél. ceb. 0,9-3,0. Gr. linf. 18. Peq. linf. 38-41, 1/2.

Kanthak y Hardy.—Ps. 20-30. Eos. 1,2 Cél. ceb. 2-5. Monoc. 2-6. Linf. 70-80.

Klieneberger y Carl. — Más linfocitos que pseudoeosinófilos. Eos. alrededor 1. Monoc. pocos. Cél. ceb. 4-5.

Lindberg. — Seudoeos, 45, 5. Eos. 1. 5. Cél. ceb. 6. o. Monoc. 7. Linf. 36.

Técnica seguida en la Intoxicación
de los Conejos y modo de hacer los
Exámenes Hematológicos

Para llevar a cabo la intoxicación de los conejos con tetraetilo de plomo, se comienza por sujetar al conejo, amarrándole las extremidades. Se toma una mascarilla especial en forma de embudo, a la cual se le pone en el fondo y por medio de unas pinzas un fragmento de gasa estéril. Valiéndonos de una pipeta, se ponen 10 gotas de tetraetilo de plomo en dicha gasa e inmediatamente se adapta la mascarilla al hocico del animal, sujetándola muy bien y teniendo cuidado de cubrir perfectamente con algodón, el espacio comprendido entre el hocico del conejo y las paredes laterales de la mascarilla para que no se escapen los vapores del tetraetilo de plomo. En ésta forma el animal aspira todos los vapores.

En el fondo de la mascarilla, se encuentra un pequeño orificio que permite la entrada de aire para que el conejo pueda respirar.

Se tiene al animal con la mascarilla durante 15 minutos, al cabo de este tiempo se le quita la mascarilla y se le desamarran las extremidades.

TECNICA SEGUIDA PARA LOS EXAMENES HEMATOLOGICOS

TOMA DE LA SANGRE.—Se afistan portaobjetos desengrasados y limpios, sumergiéndolos en una solución concentrada de sosa cáustica, después en agua y nuevamente se sumergen en una mezcla de éter y alcohol en partes iguales, se lavan con agua y se dejan secar al aire por sí solos. También se tienen listas dos pipetas mezcladoras de Thoma, (perfectamente limpias, secas, exentas de polvo y teniendo cuidado de que la bolita de cristal de la pipeta no esté adherida a las paredes, sino que se mueva libremente) una para el recuento de glóbulos rojos y otra para el de blancos. Además un Hemoglobímetro de Dare.

MODO DE OPERAR.—La sangre se toma por punción de la vena marginal del conejo. Se procede a quitar completamente el

pelo del conejo existente en el campo operatorio, ya que éste puede retener plaquetas y leucocitos, se provoca la turgencia de la vena golpeándola con los dedos, se frota con un algodón mojado en alcohol, se fija la vena marginal entre los dedos índice y pulgar y se introduce la aguja estéril en la vena. La sangre debe fluir espontáneamente, es conveniente prescindir de las dos primeras gotas. La tercera gota se utiliza para la determinación del contenido de hemoglobina, que se recoge por capilaridad en un dispositivo del hemocitómetro, adecuado para tomar la sangre a la cuál se le determina inmediatamente su valor de hemoglobina. En segunda se limpia el campo operatorio con un algodón seco y por una incisión posterior se hace salir otra gota de sangre. Si no fluye, ya que se le aplica muy pronto, será necesario practicar una punción más profunda. Se hace salir una nueva gota que se aspira con la pipeta mezcladora hasta el recuento de hemates, hasta la marca 0.5. Aspirada la sangre, se extrae el resto de la misma que haya podido quedar adherida en la extremidad de la pipeta y se procede a aspirar una solución de cloruro de sodio. Primero se aspira la solución a una velocidad rápida, después más lentamente, a medida que se va llenando la dilatación en forma de ampolla de la pipeta y acercándose el líquido a la señal 10-1, pues no se debe pasar de dicha señal. Una vez alcanzado el aforo, se ocluye con los dedos índice y pulgar las extremidades de la pipeta y se agita la mezcla durante el momento, para que se obtenga una repartición uniforme por el contenido de la pipeta que se encuentra en el ensanchamiento de la pipeta. No se deben formar en ésta coágulos ni burbujas, porque no es posible la determinación exacta, si esto sucediera hay que volver a empezar la operación.

Para la determinación de los leucocitos se sigue el mismo principio que en el caso de los hemates.

Se vuelve a limpiar la zona del conejo con un algodón seco y se extrae otra gota de sangre que se aspira con la pipeta mezcladora especial hasta la marca 0.5, se limpia la punta de la pipeta con papel filtro y se procede a aspirar el líquido de dilución hasta la marca 11.

Como relativamente hay pocos leucocitos, los glóbulos rojos a causa de su gran número impedirían verlos y por lo tanto se re-

curre a lisarlos mediante una solución que a la vez tiñe los núcleos de los leucocitos. Este líquido de dilución que es el que se aspira hasta la marca 11, se llama de Hayem y consiste en:

Acido acético cristallizable	0.5
Solución alcohólica de azul de metileno	1
Agua destilada	100

Una vez alcanzado el aforo de la pipeta, se agita la mezcla de la misma manera que para el cuantéo de glóbulos rojos.

Después se procede a tomar sangre para las preparaciones destinadas a la obtención de la fórmula leucocitaria, observación de granulaciones basófilas y observación de reticulocitos.

Para hacer las preparaciones se recoge una gota pequeña de sangre, con la cara inferior de un portaobjetos, se apoya por uno de sus extremos un cubre objetos en la gota, que se extiende por capilaridad y dándole una inclinación de 45°, se desliza rápidamente de derecha a izquierda. Es conveniente obtener la preparación en capa delgada y en la que no se deben haber formado lagunitas porque indicarian un mal desengrasado.

Una preparación bien hecha se seca rápidamente en contacto con el aire.

Para obtener la preparación que va a servir para la observación de reticulocitos, se pone en el portaobjetos una gota de sangre muy pequeña y otra de igual dimensión de una solución de azul brillante de cresil al 0.5% en suero fisiológico. Se mezclan perfectamente con el cubreobjetos y se extiende con éste la mezcla. Se seca la preparación al aire.

Al terminar de tomar la sangre de la vena marginal del conejo, se frota el lugar de la punción con un algodón mojado en alcohol o yodo.

RECuento de GLOBULOS ROJOS

Se usó la cámara cuentaglóbulos de Carl Zeiss, el principio de esta cámara consiste en dividir un espacio de volumen exactamente conocido en muchos cuadros distintos, mediante divisiones microscópicamente visibles.

Se agita la pipeta mezcladora y se le sopla para expulsar

una parte de su contenido, se utiliza una gota de la mezcla procedente del centro de la ampolla, teniendo cuidado de limpiar inmediatamente antes de cargar la cámara cuantaglobulos, la extremidad de la pipeta del líquido a ella adherido. La gota que no debe ser demasiado gruesa, se deja caer en el centro de la cámara, se ocluye rápidamente con un cubreobjetos, que no es de excesivo espesor debido a la distancia focal de la lente, ni demasiado delgado a fin de evitar la distorsión exagerada que entonces tendría.

Hay que evitar la formación de burbujas de aire, para lo cual se aplica primero el cubreobjetos por uno de sus bordes, haciendo que entre en contacto con la gota de la cámara y entonces se acaba de aplicar todo el cubreobjetos ejerciendo ligera presión; la sangre desaparece uniformemente en la cámara. Esta manipulación debe hacerse lo más rápida para evitar la sedimentación de la sangre, que las repartición es considerable. Una vez llena la cámara se reconoce que el cubreobjetos se halla bien aplicado por la aparición y persistencia en todos sus bordes de los anillos de Newton que revelan que el líquido ha alcanzado la altura necesaria, en este momento la altura de la cámara es de $1/10$ de milímetro. Se esperan unos minutos a fin de que se sedimenten los glóbulos rojos. Se lleva la cámara al microscopio empleándose un objetivo de mediano aumento y un buen foco laminoso, observándose la repartición de los glóbulos, la cual debe ser uniforme en todas partes y que no hayan quedado tantos glóbulos en la periferia, porque en este último caso la numeración no sería exacta.

En el fondo de la cámara hay una serie de pequeños cuadrados que miden $1/20$ de mm. de lado, por consiguiente $1/400$ de mm^2 de superficie y como la cámara tiene $1/10$ de mm. de altura, el contenido de cada cuadrado es de $1/4000$ de mm^3 .

Es sencillo hacer el cálculo de los glóbulos rojos que corresponden por milímetro cúbico, pues cada pequeño cubo de base igual al pequeño cuadrado posee un contenido igual a $1/4000$ de mm^3 , y recordando que la dilución en la pipeta cuando se ha aspirado sangre hasta la señal 5, será de 1:200, por consiguiente cuando se cuentan los hematos de 20 cuadrados pequeños de cada esquina de la cuadrícula, es decir los que corresponden a 80 cuadrados pequeños y esta suma se multiplica por 10000, se obtiene entonces

el número de glóbulos rojos por mm^3 , expresado en millones, debido a que 80 está comprendido 5 veces en 400, en consecuencia 5 por 10 que es el espesor de la cámara y por 200 que es la dilución de la sangre es igual a 10000.

RECUESTO DE GLOBULOS BLANCOS

La determinación del número de leucocitos se basa en el mismo principio que el de los hematias. La repleción de la cámara cuantaglobulos y la numeración, se verifican de manera análoga a la expuesta para los glóbulos rojos.

La numeración se lleva a cabo contando todos los glóbulos blancos contenidos en los 400 cuadrados pequeños, este número de leucocitos se multiplica por 10 debido a que la altura de la cámara es de $1/10$ de mm. y después por 20 porque la dilución de la sangre es de 1:20, el resultado obtenido nos da el número de glóbulos blancos por milímetro cúbico expresado en millares.

FORMULA LEUCOCITARIA.

La fórmula leucocitaria es la expresión de la proporción de las diferentes variedades de leucocitos.

Para la coloración de la preparación se empleó el método de coloración de May-Grünwald - Giemsa.

- 1.—Se procede a la fijación de la preparación con alcohol absoluto metílico, durante 3 minutos.
- 2.—La preparación se tiñe con solución diluida de May-Grünwald, dejándola actuar durante 5 minutos.
- 3.—Lavado con agua destilada.
- 4.—La preparación se tiñe con la solución de Giemsa diluida durante 15 a 20 minutos.
- 5.—Enérgico lavado mediante chorro de agua (para ello se utiliza agua destilada) hasta que la preparación aparezca de color rosado.
- 6.—Secado de la preparación al aire.
- 7.—Montaje con aceite de cedro.

Se examina la preparación con objetivo de inmersión. Es conveniente empezar la determinación, siempre por la parte superior de la preparación e ir descendiendo sistemáticamente. Se ha-

ce el recuento de cada variedad de elementos. Cuando se llega a un total de 100, se anota el número de cada variedad y la fórmula queda establecida.

OBSERVACION DE LAS GRANULACIONES BASOFILAS DE LOS HEMATIES

La coloración más apropiada para su observación es el azul de metileno boratado de Manson.

1.—Fijación de la preparación con alcohol absoluto metílico durante 5 minutos.

2.—Teñido de la preparación con solución de azul borácico de Manson, durante 30 segundos.

Este colorante consiste en:

Agua hirviendo	100 c.c.
Borato de sodio	5 gr.
Azul de metileno q. p.	2 gr.

Se diluye esta solución hasta que quede transparente.

3.—Se lava la preparación bajo chorro de agua hasta que éste no arrastre más colorante.

4.—Secado y montaje

Se observa con el objetivo de inmersión. Las granulaciones aparecen con dicho método azul negruzco.

Esta coloración también es la mejor para poner de manifiesto los hematíes policromáticos que toman un color que varía de ligeramente azulado a azul oscuro, según la intensidad de la policromasia.

OBSERVACION DE LOS RETICULOCITOS

Después de haber hecho la preparación con la sangre y azul brillante de cresil, se fija como en los casos anteriores y se tñe con solución de May-Grünwald, durante 15 a 20 minutos. Se lava muy bien y se procede al secado y montaje.

Al hacer la observación con objetivo de inmersión, aparecen en los glóbulos rojos, pequeñas granulaciones de tamaño y disposición diversa, generalmente tienen el aspecto de una red difusa. Esta red puede ocupar la célula completa o estar limitada en la periferia o en el centro de la célula. A ésta forma se le ha dado el nombre de "reticulocito".

De todos los métodos de examen para descubrir la existencia de hematíes jóvenes, el más importante es el examen de los reticulocitos, porque representan el reactivo más delicado que pone en evidencia el proceso regenerativo, cuando fracasan la policromasia y las granulaciones basófilas.

Observaciones

Continuando con el desarrollo del primer punto del capítulo anterior y que se refiere a la intoxicación de los conejos, debemos hacer notar que como dosis para la intoxicación se comenzó por 2 gotas de retractilo de plomo, dándoselas a aspirar a los dos primeros conejos diariamente durante 15 minutos. Como esta dosis relativamente fuerte no parecía provocar ningún fenómeno en el conejo, se fué aumentando a 4, 6, 8 y 10 gotas, tomándose ésta última como la mejor dosis y la que se usó para los siguientes trabajos practicados.

Los resultados obtenidos en los exámenes hematológicos se anotan en los cuadros siguientes:

PRIMER CONEJO

Fecha de la toma de sangre	Peso	Hemoglobina	Globulinas totales por m.m.	Globulinas blancas por m.m.	Serumoglobina	Eritrocitos	Leucocitos	Granulocitos	Reticulocitos	Células policromáticas
Julio 1 ^o	1.320 kg.	110	5.605.000	10800	38	2.000.555			1 por campo	1 por campo
Julio 8	1.310 kg.	98	5.270.000	9400	41	1.006.552			2 por campo	2 por campo
Julio 18	1.290 kg.	80	5.040.000	8000	24	0.006.50	+		2 por campo	2 por campo
Julio 20	1.255 kg.	80	5.210.000	6740	55	0.006.39	++		2 por campo	2 por campo

Murió el 2 de agosto.

La primera fecha de cada cuadro corresponde a las determinaciones del conejo normal.

SEGUNDO CONEJO

Fecha de la toma de sangre	Peso	Hemoglobina	Globulinas totales por m.m.	Globulinas blancas por m.m.	Serumoglobina	Eritrocitos	Leucocitos	Granulocitos	Reticulocitos	Células policromáticas
Julio 21	1.620 kg.	105	7.040.000	7000	28	3.000.00			1 por campo	1 por campo
Julio 10	1.420 kg.	85	5.800.000	12000	18	0.006.48			2 por campo	2 por campo
Julio 19	1.390 kg.	70	5.100.000	13000	61	0.006.33	+		2 por campo	1 por campo
Julio 30	1.125 kg.	70	5.280.000	11000	64	0.006.42	+		2 por campo	2 por campo

Murió el 3 de Agosto.

TERCER CONEJO

Fecha de toma de sangre	Peso	Hemoglobina	Globulinas rojas por mm.	Globulinas blancas por mm.	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos	Mastocitos	Leucocitos	Granulaciones basófilas	Reticulocitos	Células Policromáticas
Agst. 14 1.320 kg.	92	1.970.000	8.100	26.000	0	4	70				1 por campo	1 por campo
Agst. 21 1.280 kg.	88	1.870.000	9.000	35.000	0	3	62	+			1 por campo	3 por campo
Sept. 2 1.240 kg.	78	1.960.000	10.000	40.000	0	4	56	++			1 por campo	2 por campo

Murió el 14 de septiembre.

CUARTO CONEJO

Fecha de toma de sangre	Peso	Hemoglobina	Globulinas rojas por mm.	Globulinas blancas por mm.	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos	Mastocitos	Leucocitos	Granulaciones basófilas	Reticulocitos	Células Policromáticas
Agst. 20 1.430 kg.	100	2.260.000	12.000	27.000	0	5	68				1 por campo	1 por campo
Sept. 2 1.290 kg.	87	1.620.000	11.000	15.000	0	5	52	++			1 por campo	2 por campo

Murió el 14 de septiembre, presentando una lesión en la parte inferior del cuadril izquierdo.

QUINTO CONEJO

Fecha de toma de sangre	Peso	Hemoglobina	Globulinas rojas por mm.	Globulinas blancas por mm.	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos	Mastocitos	Leucocitos	Granulaciones basófilas	Reticulocitos	Células Policromáticas
Sept. 10 1.430 kg.	100	2.000.000	12.000	30.000	0	2	78				1	2 por campo
Sept. 20 1.350 kg.	85	1.850.000	13.000	32.000	0	1	43	++				2 por campo

Murió el 28 de septiembre, teniendo una lesión ocular.

Nótese en los conejos 40. y 50. que presentaban lesión, un cambio franco en las determinaciones.

SEXTO CONEJO

Fecha de toma de sangre	Peso	Hemoglobina	Globulinas rojas por mm.	Globulinas blancas por mm.	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos	Mastocitos	Leucocitos	Granulaciones basófilas	Reticulocitos	Células Policromáticas
Oct. 1 ^o	1.920 kg.	108	5.720.000	7300	37	0	2	61			1 por campo	1 por campo
Oct. 8	1.910 kg.	90	5.100.000	9800	38	0	6	56	+			2 por campo
Oct. 16	1.900 kg.	85	4.270.000	13800	54	0	2	44	+			2 por campo
Oct. 24	1.885 kg.	70	4.080.000	14200	55	0	5	40	++		1 por campo	2 por campo

Murió el 26 de noviembre

Se observó en todos los conejos, a medida que fué aumentando la intoxicación, marcada poikilocitosis. Se comprende con el nombre de poikilocitos a los eritrocitos de forma externa anormal.

Con May-Grünwald Giemsa, se encontró en la mayor parte de los núcleos de los leucocitos, picnósis intensa (los núcleos se tiñen de color muy oscuro y no permiten reconocer una estructura clara) y en algunos de ellos "inclusiones basófilas nucleares".

En la sangre de todos los conejos intoxicados, se observó policromasia, principalmente con la coloración de Manson.

Se les practicó la necropsia y se encontraron las siguientes manifestaciones de la intoxicación:

El conejo en rigidez completa y con congestión generalizada de la piel y de las mucosas de los ojos y de la boca.

Cavidad torácica.—No se observó derrame. Los pulmones de un color bermellón, con muy abundante puntilleo hemorrágico.

El corazón intensamente congestionado y de 2½ cm. en su mayor diámetro. Los grandes vasos repletos de sangre. Las cavidades del corazón repletas de sangre coagulada. Al abrir la cavidad abdominal, se observó que el estómago está dilatado y repleto de alimentos. Los vasos sanguíneos del mismo, congestionados. El intestino delgado no se observó dilatado. Las últimas porciones del intestino dilatadas y sus vasos sanguíneos llenos de sangre. No se encontró derrame.

El hígado intensamente congestionado. La porción hepática correspondiente a la parte superior, se le observó una zona blanquizca con puntilleo, destacándose esta mancha por su color, del resto del órgano.

Riñones congestionados en su porción cortical.

El páncreas congestionado.

Conclusiones

- 1.-El tetractilo de plomo produce en los conejos anemias intensas, que se manifiestan, sobretudo, por una disminución considerable de hemoglobina.
- 2.-Se observa una disminución de glóbulos rojos y un aumento de glóbulos blancos.
- 3.-Con frecuencia se encuentran alteraciones en los hematíes, como granulaciones basófilas, poiquilocitosis, policromasia y reticulocitosis.
- 4.-La leucocitosis se caracteriza por una disminución de seudoeosinófilos y un aumento de linfocitos.
- 5.-Fue notable la pérdida de peso de los conejos conforme avanzaba su intoxicación.

Bibliografia

- 1.--Dr. Alice Hamilton. - Occupation and Health. - Tetra - Ethyl Lead. - Volume II. - 1934
- 2.--Carey P. Mc Cord, M. D. - A New Test For Industrial Lead Poisoning. - 1928
- 3.--Otto Naegeli. - Tratado de Hematologia Clínica. - 1938.
- 4.--Prof. C. Biondi. - Occupation and Health. - Lead Poisoning. - Volume II. - 1934.
- 5.--Rosenow Georg. - Enfermedades de la sangre. - 1931.

Imprenta
"SANTO TOMAS"
Priv. Lauro Aguirre 19
Eric. 16-08-37
