

2



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ALTERACIONES MORFOLÓGICAS EN HÍGADO DE RATÓN POR INHALACIÓN DE VANADIO

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

SANDRA ACEVEDO NAVA

DIRECTOR:
M en C. TERESA IMELDA FORTOUL VAN DER GOES



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

MEXICO, D. F.



DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

2002



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
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

"ALTERACIONES MORFOLÓGICAS EN HIGADO DE RATÓN POR INHALACIÓN DE VANADIO"

realizado por PAS. BIOL. SANDRA ACEVEDO NAVA

con número de cuenta 9657628-1, quien cubrió los créditos de la carrera de BIOLOGÍA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

M. EN C. TERESA I. FORTOUL VAN DER GOES *T. Fortoul*

Propietario

DRA. PATRICIA RIVAS MANZANO *Patricia Rivas*

Propietario

M. EN C. MARTHA PATRICIA BIZARRO NEVARES *M. Bizarro*

Suplente

BIOL. IVONNE GRISEL SANCHEZ CERVANTES *I. Sanchez*

Suplente

BIOL. IRMA ELENA LOPEZ MARTINEZ *I. Lopez*

FACULTAD DE CIENCIAS
U N A M.

Consejo Departamental de BIOLOGÍA

[Firma]
DRA. PATRICIA RAMOS MORALES



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGÍA

DEDICATORIAS

A MIS PAPIS

Por todo la confianza que siempre han tenido en nosotros y sobre todo por ese gran amor, con todo mi amor para los mejores padres del mundo

A OMAR

Por todo lo que hemos aprendido juntos y lo que nos falta eh!. Hermanito te quiero mucho

A MI MARAVILLOSA ABUELITA

Que siempre nos has enseñado con tu ejemplo que la vida se disfruta a cada momento y que nunca dejemos de luchar por nuestros sueños. Te Quiero Mucho
Abue

A LA BOLA

Por compartir juntos las 1000 chocoaventuras ya que sin ustedes nada sería igual. Di TQ1CH y recuerda "siempre seremos las niñas"

A TERE

Por creer en mi ofreciéndome tu apoyo, confianza pero sobre todo tu cariño

A MI EXTENSÍSIMA FAMILIA

Por hacer mi vida muy divertida

A LAS VIEJAS (MARINA Y MAYRA)

Por ser parte de mi vida y como no, si desde el kinder no me puedo deshacer de ustedes. Gracias por su amistad incondicional

A LUZ Y RAQ

Por la amistad tan increíble que hemos formado. Muchas gracias

A BOB

Por ser mi mejor amigo y compartir juntos parte de nuestras vidas

A LA FAM. ACEVEDO NAVA

Porque todos los integrantes de esta familia somos muy chidos
(Chucho, Paty, Omar, Sandy, Puchi, América y Blue)

AGRADECIMIENTOS

A LA DRA. TERESA FORTOUL

Por todo su apoyo, confianza y mucha paciencia

A TODO EL EQUIPO DEL LAB.

Tere, Irmuchis, Paty, Ivonne, Rose, Laura, Geraldine, Edgar, Rodrigo, Carlos, Adriana porque siempre me han hecho sentir parte de ustedes

IRMA, IVONNE, PATY

Por enseñarme chorramil cosas que ahora son parte de mi vida

A MIS SINODALES

Dra. Patricia Rivas, Biol. Ivonne Sánchez, M en C. Patricia Bizarro y Biol. Irma López por toda la ayuda que me brindaron en la revisión de este trabajo

AL TÉCNICO FRANCISCO PASOS

Por su gran apoyo en la toma de fotografías incluidas en el presente trabajo

A LAS TÉCNICAS MARÍA ISABEL VEGA Y VERÓNICA RODRÍGUEZ

Por su colaboración en la Técnica Histológica realizada en el trabajo

AL TÉCNICO VICTOR DELGADO

Por su ayuda en el desarrollo del experimento

A LOS M.V.Z. ENRIQUE PINZÓN ESTRADA, ISMAEL TORRES SALDAÑA Y VICTOR MANUEL SALGADO ALFARO

Por su apoyo al proporcionar del Bioterio los animales utilizados en el estudio experimental, así como su cuidado

**ALTERACIONES
MORFOLÓGICAS EN HÍGADO
DE RATÓN POR
INHALACIÓN DE VANADIO**

INDICE

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN

A. Contaminación ambiental	4
B. Contaminación atmosférica de la Ciudad de México	4
C. Fuentes de contaminación	6
D. Efectos de la contaminación en la salud	7
E. Contaminación por metales	8
F. Características del V	10
F I. Características físicas y químicas del V	11
F II. Efectos en la salud y toxicología del V	13
F III. Absorción, Distribución y Excreción del V	14
G. Funciones del Hígado	16
H. Histología del Hígado	17
H I. Estructura de los hepatocitos	19
H II. Lobulillo clásico	21
H III. Lobulillo portal	21
H IV. Acino portal	22
H V. Conductos sanguíneo en el lobulillo	23
a. Espacio sinusoidal	23
b. Venas centrales	24
c. Conductos portales	24
H VI. Regeneración hepática	25

2. JUSTIFICACIÓN	27
3. HIPÓTESIS	27
4. OBJETIVO	27
5. MATERIAL Y MÉTODO	28
A. Método de inhalación	28
B. Técnica de sacrificio	29
C. Procesamiento del tejido	30
C I. Microscopía de Luz	30
C II. Microscopía electrónica de transmisión	30
6. RESULTADOS	31
7. DISCUSIÓN	43
8. PROPUESTAS	48
9. CONCLUSIONES	49
10. BIBLIOGRAFÍA	50

RESUMEN

La contaminación atmosférica a causa de los metales pesados se ha convertido en un tema actual, tanto en el campo ambiental como en el de salud pública debido a que son contaminantes potencialmente tóxicos para los seres vivos, ocasionando daños severos y en ocasiones ausentes de síntomas, por lo que se ha puesto mucha atención en minimizar la exposición de la población.

El vanadio (V) es un metal pesado que ha sido reportado en el aire de la Ciudad de México, producto de fuentes industriales, quema de aceites, así como también la combustión de los derivados del petróleo (gasolina). Los compuestos del V son utilizados en el vidrio, porcelanas, pinturas, químicos fotográficos, etc.

Como órgano fundamental en el metabolismo y la detoxificación, el hígado se encuentra sometido a daños producidos por una enorme cantidad de productos químicos tanto farmacéuticos como ambientales. La lesión que el hígado puede llegar a sufrir puede ser consecuencia de una toxicidad directa o por la conversión de una sustancia biológica extraña en una activa.

Debido a que no hay información suficiente que indique la alteración morfológica causada por la inhalación aguda y subcrónica de pentóxido de vanadio (V_2O_5) en el parénquima hepático, se decidió realizar un modelo experimental de inhalación agudo y subcrónico de V_2O_5 .

Esteatosis e infiltrado inflamatorio fueron los daños encontrados en el parénquima hepático utilizando microscopía de luz y electrónica de transmisión, los cuales estuvieron relacionados con la concentración inhalada de V, lo que indica que existe una relación dosis-respuesta.

1. INTRODUCCIÓN

A. CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

La contaminación ambiental se ha convertido en un gran problema en las zonas urbanas en las últimas décadas debido al incremento en las necesidades de la población y de las industrias, lo que ha provocado una alteración en las condiciones atmosféricas, incluido el clima, la vida de las plantas, animales y la salud humana (Heres *et al*, 1995; Andrade y Sánchez, 1997).

El desarrollo de tecnologías que no toman en cuenta la protección del ambiente y la salud humana, propician el incremento de contaminantes potencialmente tóxicos en el ambiente; este problema es aún mayor en los países subdesarrollados, ya que el uso de tecnologías obsoletas y la tardanza en la aplicación de medidas de protección al ambiente generan un paulatino aumento en el deterioro ambiental (Espinosa, 1989).

La atmósfera se contamina cuando se ve alterada por la adición de partículas, gases o formas de energía que al incorporarse o actuar en ella, modifican su composición (Godish, 1991).

B. CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LA CIUDAD DE MÉXICO

La contaminación del aire en la Cd. de México es consecuencia de las múltiples alteraciones ecológicas sufridas por el acelerado proceso de urbanización e

industrialización, propiciando un aumento en los procesos de consumo energético y fuentes de emisión de contaminantes (Bravo *et al* ,1991; Gutiérrez, 1986).

Uno de los factores determinantes del problema de contaminación en la Cd. de México es su ubicación geográfica debido a que es una cuenca localizada a 2,240 metros sobre el nivel del mar, rodeada por montañas altas, las cuales impiden la salida del aire junto con los contaminantes provenientes del Norte, donde se encuentran las zonas industriales (López, 1994).

Existen elementos del clima que influyen en el grado de contaminación. Estos son la precipitación pluvial la cual ayuda a eliminar temporalmente los contaminantes de la atmósfera, pero algunos se depositan en el suelo, la flora y la fauna afectándolas; también el movimiento de las corrientes de aire ayudan a esparcir los contaminantes a través de la atmósfera, disminuyendo la concentración de los mismos y retirándolo del contacto humano (Sánchez, 1994).

En los últimos años el problema de la contaminación atmosférica en la Ciudad de México ha sido un tema de investigación muy importante con el fin de identificar los factores involucrados y así proponer algunas soluciones.

C. FUENTES DE CONTAMINACIÓN

Un contaminante es toda materia o sustancia, sus combinaciones o derivados químicos o biológicos, que al incorporarse o adicionarse al ambiente alteran o modifican las características naturales. También se considera como contaminante, a toda forma de energía, radioactividad y ruido, que altere el estado natural del ambiente (Bravo *et al*, 1997).

Los contaminantes en la atmósfera pueden ser liberados por una fuente identificable o pueden producirse en la atmósfera como resultado de reacciones químicas.

Existen diferentes fuentes de contaminación las cuales se clasifican en naturales y artificiales (tabla 1), y ambas producen diferentes tipos de contaminantes (tabla 2).

Tabla No. 1 Principales fuentes de contaminación

NATURAL (NO HAY INTERVENCIÓN DEL HOMBRE)	ARTIFICIAL (ACTIVIDADES HUMANAS)
Erupciones volcánicas	Agricultura
Incendios forestales (abiótico)	Ganadería
Polvo (abiótico)	Industria
Marea roja (biótico)	Combustión

Tabla No. 2 Diferentes clases de contaminantes
(Tomado de Turk, 1973)

QUÍMICOS		FÍSICOS	BIOLÓGICOS
<u>Orgánicos</u>	<u>Inorgánicos</u>		
Proteínas	Ácidos	Calor	Toxinas
Grasas	Metales	Temperatura	Pólenes
Jabones		Ruido	Bacterias
Carbón		Radiación	Virus
Carbohidratos			Parásitos
Detergentes			Hongos
Petróleo			

D. EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN EN LA SALUD

Los contaminantes atmosféricos tienen diferentes grados de toxicidad en el ser humano, los animales y los vegetales. Aunque ningún contaminante deja de ser nocivo para la salud, su importancia relativa depende también de las concentraciones específicas presentes en cada lugar. (Godish, 1991; Maynard, 1993).

Existen diferentes tipos de contaminantes que pueden causar efectos nocivos en la salud; entre ellos tenemos:

Monóxido de carbono, interfiere con el transporte de oxígeno, llegando a ocasionar la muerte en lugares cerrados. Provoca cansancio, reducción de la percepción visual y de la destreza manual, así como, de la habilidad para aprender y realizar habilidades sensomotoras complejas (Amdur *et al*, 1991)

Ozono, es un gas irritante, daña las vías respiratorias irritándolas e inflamándolas, reduce la capacidad que tiene el aparato respiratorio para remover partículas extrañas afectando así al pulmón. La exposición aguda de este contaminante provoca irritación de los ojos. (Valverde *et al*, 1997)

Partículas suspendidas, causan trastornos en las vías respiratorias, particularmente bronquitis y asma. Por otro lado la contaminación por partículas se han asociado con infartos, y otras patologías cardiovasculares (Prescott *et al*, 2000)

Metales pesados, los cuales se han identificado como contaminantes muy importantes por su potencial tóxico sobre los organismos vivos. Los daños que causan son tan severos y en ocasiones tan ausentes de síntomas, que las autoridades ambientales y de salud de todo el mundo ponen mucha atención en minimizar la exposición de la población, en particular de la población infantil, a estos elementos tóxicos (www.texascenter.org/publications/torreon.pdf).

E. CONTAMINACIÓN POR METALES

Las fuentes más importantes de emisión de metales son las actividades industriales y tecnológicas, además de la combustión de carburantes fósiles, incluyendo a la gasolina. Los metales pesados no pueden degradarse ni biológica ni químicamente en el ambiente por lo que pueden transformarse en formas más tóxicas. La estabilidad de los metales permite que sean transportados

desde sus fuentes de origen a distancias considerables tanto por aire como por agua (Amdur *et al*, 1991).

Los metales como el Plomo (Pb), Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Aluminio (Al), Zinc (Zn), Manganeso (Mn), Vanadio (V), entre otros son contaminantes que se encuentran en la atmósfera en forma de partículas suspendidas totales (PST). El grado de absorción de estos metales, depende de su concentración en el aire, del compuesto químico inhalado, y las condiciones fisiológicas del sujeto (Fortoul *et al*, 1996).

Los metales pesados más peligrosos para la salud son: el Pb, Mercurio (Hg) , Cd, As, Cu, Zn y Cromo (Cr); estos metales se encuentran naturalmente en el suelo en cantidades mínimas, que presentan pocos problemas. Pero al estar concentrados en ciertas áreas, constituyen grandes peligros. El As y el Cd, pueden causar cáncer. El Hg puede causar mutaciones y otros daños genéticos, mientras que el Cu, Pb y Hg pueden ocasionar lesiones cerebrales y óseas (www.jhuccp.org/prs/sm15/m15chap2.stm).

Algunas consideraciones sobre los metales son:

El Pb es un metal pesado que cuando es ingerido, inhalado o absorbido por la piel, resulta ser altamente tóxico para los seres vivos en general y para los humanos en particular. La exposición al Pb, aún en concentraciones bajas, afecta a niños y adultos. En cantidades muy pequeñas, el plomo interfiere con el desarrollo del sistema nervioso, retarda el crecimiento y ocasiona

problemas digestivos. En casos extremos causa convulsiones, colapso respiratorio e incluso la muerte www.texascenter.org/publications/torreon.pdf

El As es muy tóxico y causa daños al sistema nervioso, al sistema cardiovascular y está ligado con ciertos tipos de cáncer como el de la piel. La intoxicación crónica por arsénico puede manifestarse por la aparición de llagas y un aspecto leproso. Inhalar arsénico aumenta las posibilidades de desarrollar cáncer pulmonar. La intoxicación crónica puede causar la muerte (www.texascenter.org/publications/torreon.pdf).

El Cd es dañino en dosis muy pequeñas ya que el envenenamiento por cadmio produce osteoporosis, enfisema pulmonar, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, hipertensión y diversas cardiopatías (www.texascenter.org/publications/torreon.pdf).

Algunos metales juegan papeles fisiológicos esenciales como micronutrientes como por ejemplo el V, Cu, Se, Mn, etc. se requieren en pequeñas cantidades para llevar a cabo funciones bioquímicas importantes en plantas y animales (www.galenet.galegroup.com/servlet/SRON&n=10&i= do&locID=unam&op2=AND&op1=AND).

F. CARACTERÍSTICAS DEL VANADIO

El vanadio fue descubierto en 1802-1803 por el mineralogista español Don Andrés Manuel del Río en México a partir del mineral de plomo pardo (vanadinita) llamado "pancromio", un nombre referido a la variedad de colores

que el vanadio despliega cuando pasa por sus diversos estados de oxidación. Del Río lo rebautizó como "eritronio" debido a que las sales de este elemento se tornan rojas cuando se tratan con fuego y ácidos. Al poco tiempo de su descubrimiento se pensó que solo era una nueva forma de cromo y se desdijo de su descubrimiento. El elemento fue redescubierto por el químico sueco Nils G. Sefström en 1831 y lo llamo "vanadin" (vanadio) en honor de Vanadis, la diosa de la belleza de los antiguos arios. En este mismo año, Wöhler estableció al eritronio como vanadio (Guevara, 1996).

F I. CARACTERÍSTICA FÍSICO-QUÍMICAS DEL VANADIO

❖ Características químicas

Nombre: Vanadio; Símbolo: V; No. atómico:23; Masa atómica: 50.942; Familia: Metales (elemento de transición); Grupo: V b; Grado de oxidación: -1 a -5 (Mahanan, 1992).

❖ Características físicas

Es un metal dúctil, grisáceo, con un punto de fusión de $1980 \pm 10^{\circ}\text{C}$, un punto de ebullición de 3380°C a 1 atm (Mahanan, 1992).

El vanadio influye en el desarrollo de la contaminación ambiental debido a los altos niveles en los que se encuentra como resultado de la combustión de

aceites residuales y la emisión de pequeñas partículas en áreas urbanas favorece la presencia de vanadio en el aire (Mahanan, 1992).

Este contaminante también se encuentra en los derivados del petróleo, y su concentración va a depender del tratamiento que se le dé al petróleo, ya que se ha encontrado que los derivados contendrán mayor o menor cantidad de V, dependiendo del proceso (Nriagu, 1990). Estudios han demostrado que el petróleo mexicano contiene un elevado contenido de vanadio (Mendoza, 2000).

El vanadio es utilizado en la industria para catálisis de reacciones químicas, para ablandar el acero, en fotografía, como pigmento y en ingredientes de algunos insecticidas (Mahanan, 1992).

Las concentraciones atmosféricas de vanadio tiene rangos alrededor de $40\text{mg}/\text{m}^3$ - $100\text{mg}/\text{m}^3$ (Elkins, 1959) y la emisión atmosférica de fuentes naturales ha sido estimada en 9.3 tons/año. La fuente más importante de contaminación ambiental por vanadio es la combustión de minerales y carbón. La concentración de V en los minerales varia dependiendo de su origen (IPCS, 2000).

En los tejidos humanos el V se encuentra en cantidades muy pequeñas, del orden de ng/g. Los alimentos son una fuente importante de V para el organismo, ya que mucho de lo que se consume presenta naturalmente cantidades considerables de V como las espinacas, leche, cereales, pescado, etc. (Rehder, 1992).

Los compuestos de vanadio son redistribuidos por la actividad humana, tendiendo a acumularse en el ecosistema; se ha calculado que 66,000 toneladas de vanadio son liberadas y distribuidas en la atmósfera cada año en todo el mundo (Nriagu y Pacyan, 1988).

Una vía de ingreso de V al organismo es la inhalada, ya que puede absorberse hasta el 25% del vanadio soluble, pero hay estudios en donde se ha observado que el vanadio puede eliminarse en pocos días, por vía oral casi no se absorbe y lo poco que llega a la circulación sanguínea es eliminado por la orina (figura 1). También existen datos sobre la absorción por piel.

Normalmente el ser humano respira cerca de 1mg de vanadio por día y 1-30mg/L que es ingerido en líquidos. En total se recibe cerca de 10-70 mg de vanadio por día (IPCS,1990).

F II. EFECTOS EN LA SALUD Y TOXICOLOGÍA DEL VANADIO

La toxicidad del V se presenta principalmente con la exposición a su óxido, V_2O_5 , que en forma de polvo está presente en varios procesos industriales (Guevara, 1996).

La exposición normal ocurre por la vía respiratoria por lo que el sistema respiratorio es el sitio más propenso a presentar toxicidad a causa de este elemento (WHO, 1988).

La bronquitis y neumonía son las patologías más comunes como efectos de la exposición; también puede ocurrir irritación en los ojos y la piel. Una exposición intensa puede causar efectos negativos en el tracto gastrointestinal, en los riñones y/o en el sistema nervioso (Mahanan, 1992).

La toxicidad incrementa con el aumento del estado de oxidación del elemento. Esto es evidencia de que los compuestos de V pentavalente pueden reducirse a compuestos tetravalentes en el organismo y esto es posible por los mecanismos de detoxificación (WHO, 1988).

Estudios en ratas mostraron que los compuestos de vanadio tienen efectos teratogénicos y hay poca evidencia de una actividad carcinogénica y mutagénica (Leonard y Gerber, 1994).

F III. ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y EXCRECIÓN DEL VANADIO

El V absorbido por vía inhalada, es distribuido en el pulmón, el riñón, el hueso y ha sido detectado en los testículos (IPCS, 2000), el hígado, los músculos, el bazo, las glándulas endocrinas (Tsalev, 1984), donde la principal ruta de excreción del vanadio es por vía urinaria (IPCS 2000) (Figura 1).

El V es eliminado en la orina con una vida media de 15 a 40 hrs (IPCS, 2000 ;Barceloux, 1999).

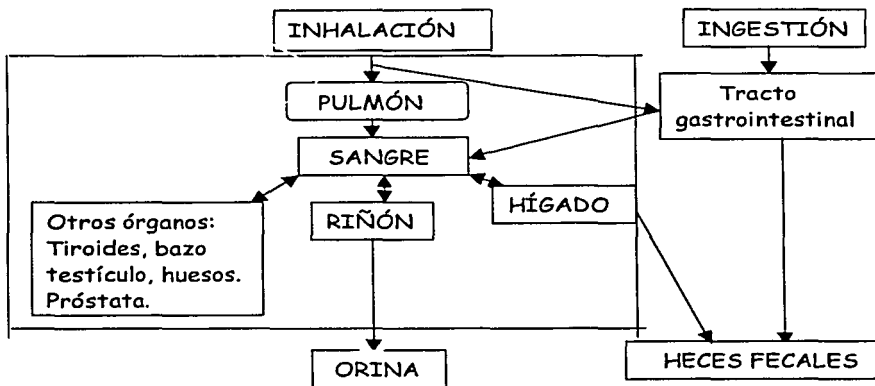


Figura 1. Ruta de absorción y excreción del V (Tsalev y Zaprianov, 1984).

Dependiendo de la concentración de vanadio en el ser humano puede ocasionar alteraciones en el metabolismo, una deficiencia de V ocasiona alteraciones en los niveles de glóbulos rojos, alteraciones reproductivas, disminución de crecimiento, entre otros. Cuando se presentan concentraciones muy elevadas de V o tóxicas, los órganos más afectados son el pulmón, el hígado, la piel, la mucosa olfatoria y el SNC provocando las siguientes sintomatologías respiratorias: bronquitis, estornudos, dolor de pecho, tos, broncoespasmo, neumonía, faringitis, etc. En los ojos se presenta conjuntivitis y alteraciones visuales. En la piel se presenta dermatitis y en el tracto gastrointestinal lengua escaldada, anorexia, gastritis (Tsalev y Zaprianov, 1984; WHO, 1988; Goyer y Mehlman, 1997).

6. FUNCIONES DEL HÍGADO

El hígado es esencial para la vida debido a sus múltiples funciones en el organismo. Al encontrarse en posición peculiar en el drenaje venoso del tubo digestivo, es susceptible de ser dañado por los materiales tóxicos absorbidos al igual que estos productos pueden ser almacenados en los hepatocitos como productos de inclusión y descargarlos como reacción a señales hormonales y nerviosas (Gartner y Hiatt, 1997).

El hígado es importante para la conservación de la concentración de glucosa en sangre. Las células parenquimatosas captan la glucosa sanguínea y la almacenan en forma de glucógeno, que también se forma a partir de otros compuestos, como los ácidos láctico y pirúvico (Fawcett, 1988).

Almacena cantidades importantes de vitaminas A y B12, ácido fólico y hierro. El hígado contiene reservas vitamínicas suficientes para prevenir la deficiencia de algunas vitaminas (Gartner y Hiatt, 1997; Geneser, 2000). El metabolismo de las hormonas esteroideas, se realizan parcialmente en el hígado, así como la formación de proteínas plasmáticas como la albúmina, alfa y β globulinas, etc (Geneser, 2000).

El hígado también es importante en el metabolismo de los lípidos, ya que estos son transportados en la sangre como lipoproteínas, sustancias que son producidas en el hígado (Geneser, 2000).

La secreción exocrina del hígado es la bilis; ésta es secretada continuamente hacia los conductos biliares en una cantidad de aproximadamente 500-1000 ml diarios. La bilis es simultáneamente una secreción digestiva y un medio de excreción (Geneser, 2000).

Otra de las múltiples funciones del hígado es la transformación de muchas sustancias químicas, que van desde medicamentos a productos químicos absorbidos de diversas fuentes: alimento, aire, agua, etc; los hepatocitos se encargan de metabolizarlos y detoxificarlos. En algunos casos el metabolismo de estas sustancias originan la formación de productos más tóxicos que los absorbidos (Ham, 1975) lo que se conoce como bioactivación.

H. HISTOLOGÍA DEL HÍGADO

El hígado, es la glándula de mayor tamaño del organismo y pesa cerca de 1500g. Tiene color pardo rojizo. Se encuentra en la porción superior derecha de la cavidad abdominal, justamente por debajo del diafragma (Gartner y Hiatt, 1997), y tiene dos lóbulos principales el derecho mayor que el izquierdo. La superficie inferior del hígado tiene impresiones que dejan los diversos órganos con los cuales normalmente está en contacto (partes del tubo digestivo y del riñón derecho), por lo cual se denomina superficie visceral. La superficie visceral representa un surco transversal profundo y corto llamado porta (puerta) del hígado (Ham, 1975).

La superficie superior del hígado es convexa, en tanto que la región inferior presenta una indentación, el hilio. El hígado tiene un riego sanguíneo doble, pues recibe sangre oxigenada de las arterias hepáticas izquierda y derecha (25%) y sangre rica en nutrientes provenientes de la vena porta (75%). Ambos vasos entran en el hígado por el hilio (Gartner y Hiatt, 1997).

El hígado lleva a cabo funciones tanto endocrinas como exocrinas donde la misma célula, el hepatocito, es la encargada de producir la secreción exocrina del hígado, la bilis, y sus numerosos productos endocrinos. Los hepatocitos convierten las sustancias nocivas en materiales no tóxicos que se excretan en la bilis (Gartner y Hiatt, 1997). El hígado está formado por un parénquima y un estroma. El primero es de índole epitelial y deriva del endodermo; el estroma está compuesto de tejido conectivo y deriva del mesodermo (Ham, 1975).

El hígado con excepción de la zona desnuda está completamente envuelto por peritoneo, que forma una cubierta de epitelio escamoso simple sobre el de la cápsula de Glisson de la glándula (Gartner y Hiatt, 1997), el cual es tejido conectivo delgado que contiene fibras colágenas dispuestas regularmente, y fibroblastos dispersos (Ham, 1975). Esta glándula es extraordinaria, porque sus elementos del tejido conectivo son escasos, de modo que la mayor parte del órgano está formado por células parenquimatosas uniformes llamadas hepatocitos (Gartner y Hiatt, 1997).

H I. ESTRUCTURA DE LOS HEPATOCITOS

Las células parenquimatosas o hepáticas (**hepatocitos**) se disponen en una serie de láminas perforadas que se ramifican y se anastomosan para formar una especie de esponja o laberinto, entre las cuales están los espacios sinusoidales. Estas láminas se extienden de la periferia del lobulillo clásico a la vena central en forma radiada. Excepto en los lugares en que se anastomosan y se ramifican, las láminas suelen tener solo una célula de espesor, aunque es obvio que cualquier célula parenquimatosas está rodeada por varias otras en una lámina. Alrededor de las zonas portales, las células hepáticas se disponen en forma de una hoja de una célula de espesor que se aplica al tejido conectivo periportal, llamada lámina limitante (Lesson *et al*, 1990).

Las células hepáticas son poliédricas, con seis o más caras, y por lo general de 20 a 35 μm de diámetro, con una membrana celular claramente definida (figura 2) (Lesson *et al*, 1990). Estas células representan alrededor del 80% de la población celular del hígado. Sus caras pueden guardar relación con espacios sinusoidales por donde se transporta la sangre hacia las venas centrales o con las células adyacentes, ya sea que estén unidas íntimamente, o separadas en parte para formar un conductillo biliar. Los sinusoides hepáticos, que por lo regular carecen de lámina basal, tienen numerosos espacios celulares que permiten el libre movimiento de materiales entre el plasma y los hepatocito, por lo que estos espacios presentan microvellosidades cortas; se encuentran revestidos por dos tipos de células: endoteliales y Kupffer (macrófagos) (Banks, 1986). Los núcleos son esféricos u ovoides, con superficie regular, y muestran considerablemente variación en tamaño de una célula a otra, variación

relacionada con el estado de poliploidía. A veces hay células binucleadas. Cada núcleo es de tipo vesicular con gránulos evidentes y dispersos de cromatina y uno o más nucleolos, y se tiñe con menos intensidad que los núcleos de las demás células del hígado, también se localizan gran cantidad de mitocondrias, así como aparato de Golgi, retículo endoplásmico rugoso y liso (Gartner y Hiatt, 1997) (Figura 2).

Aunque todas las células parenquimatosas muestran una estructura semejante, hay variaciones notables en las diversas regiones y en diferentes momentos con relación a la alimentación. Esto depende del riego sanguíneo. Las células periféricas de un lobulillo tienen un buen riego sanguíneo, pero las que están cerca de la vena central reciben muy poca sangre oxigenada (Gartner y Hiatt, 1997).

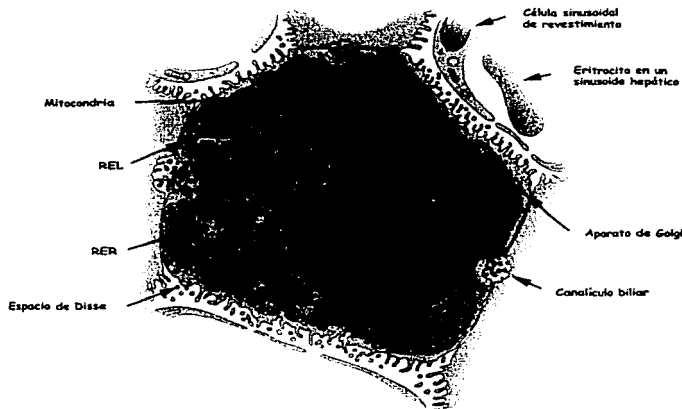


Figura No 2. Esquema que representa la forma y morfología de un hepatocito (Tomado de Gartner y Hiatt, 1997)

Los hepatocitos transforman gran parte de los materiales nutritivos que les llegan, en productos de almacenamiento, como glucógeno, que se descargará en este caso como glucosa cuando lo requiera el organismo (Gartner y Hiatt, 1997). Para entender mejor su estructura, el hígado se ha organizado en lobulillo clásico, lobulillo portal y acino portal.

H II. LOBULILLO CLASICO

Es un prisma poligonal que mide alrededor de 1 a 2mm de grosor y suele presentar forma hexagonal en el corte transversal, con una vena central en el centro y conductos portales periféricos en las esquinas (figura 3). En el ser humano no está delimitado por tejido conectivo, pero si en algunos mamíferos, como el cerdo y el camello (Lesson *et al*, 1990; Gartner y Hiatt, 1997).

El lobulillo hepático clásico tiene importancia funcional por ser una unidad estructural a partir de la cual la sangre drena a una vena lobulillar (central) (Lesson *et al*, 1990)(figura 3).

H III. LOBULILLO PORTAL

En el lobulillo clásico, el parénquima del lobulillo es el que rodea un vena central, pero en el lobulillo portal el parénquima del lobulillo es el que rodea un espacio porta que contiene el conducto biliar en el cual vacían los cordones hepáticos vecinos su secreción exocrina (Ham, 1975) (figura 3).

En un corte transversal, esta unidad es triangular, contiene parte de tres lobulillos clásicos adyacentes, y una vena central en la periferia en cada esquina (Ham, 1975) (figura 3).

H IV. ACINO PORTAL

En el aspecto patológico, el daño hepático suele estar relacionado con el riego sanguíneo, y según esté se puede reconocer una unidad estructural hepática más pequeña llamado acino hepático o unidad funcional (figura 3), el cuál correlaciona de manera directa el riego sanguíneo y la actividad metabólica, estableciendo zonas de actividad ayudando a explicar un modelo particular de regeneración (Lesson *et al*, 1990).

En el sitio en que tres lobulillos hacen contacto entre sí se incrementan los elementos del tejido conectivo, y a estas regiones se les llama **áreas portales** (tríadas) debido a que es el sitio donde se localiza la arteria hepática, el conducto biliar y la vena porta (Gartner y Hiatt, 1997) (figura 3).

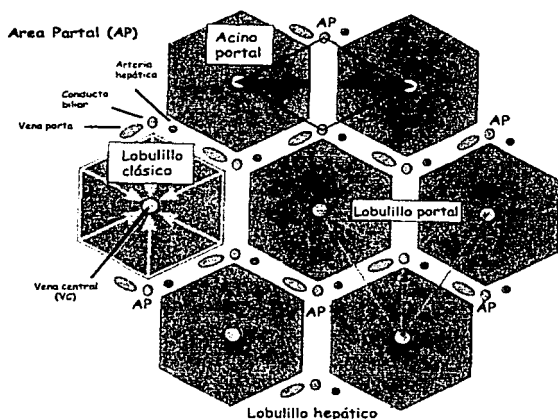


Figura No 3. Esquema de las diferentes clasificaciones del lobulillo hepático (Tomado de Gartner y Hiatt, 1997).

H V. CONDUCTOS SANGUÍNEOS EN EL LOBULILLO

Comprenden los espacios sinusoidales, las venas centrales y los conductos portales.

a. Espacios sinusoidales

El riego sanguíneo del lobulillo hepático se hace mediante los sinusoides, que forman una estructura semejante a una esponja muy extensa entre las láminas

de hepatocitos. La sangre entra a la malla sinusoidal en la periferia del lobulillo, proveniente de las ramas lobulillares de la vena porta y la arteria hepática, y circula en sentido radial por los espacios sinusoidales para drenar el lobulillo y desembocar en la vena central. Los espacios sinusoidales difieren de los capilares en que tienen un diámetro mayor (9 a 12 μm) (Lesson *et al*, 1990).

b. Venas centrales

Se localizan en el centro de los lobulillos y son las tributarias más pequeñas de las suprahepáticas. Desembocan en venas sublobulillares mayores que a su vez se unen para formar las venas colectoras, que son tributarias de las venas suprahepáticas (Lesson *et al*, 1990).

c. Conductos portales

Contienen la tríada portal formada por ramas de las arterias hepáticas, vena porta y por lo general con un vaso linfático.

La estructura mayor suele ser la rama de la vena porta, que tiene paredes delgadas; la menor es la arteria o arteriola, rama de la arteria hepática, y el conducto biliar es de tamaño intermedio y se identifica por su revestimiento de células epiteliales cúbicas. Los vasos linfáticos aparecen como espacios a manera de hendiduras revestidas por endotelio (Lesson *et al*, 1990).

H V. REGENERACIÓN HEPÁTICA

Después de una lesión, el hígado muestra un grado notable de regeneración. La organización del proceso de reparación depende de la naturaleza de la lesión, pero los hepatocitos que persisten son capaces de sufrir hipertrofia (aumento en el volumen celular) e hiperplasia (aumento anormal en el número de células normales en un tejido). Los conductos biliares también presentan proliferación activa, y es posible que a partir de esta fuente se originen nuevos hepatocitos. Es posible que las células del hígado sintetizen un mensajero químico llamado *chalone* que regula la actividad mitótica mediante un mecanismo de retroalimentación negativa, de manera que la pérdida de tejido se equilibre por la regeneración del mismo. Cuando se extirpa o se daña el tejido hepático, la cantidad de *chalone* disminuye, por lo que hay un notable aumento en la actividad mitótica. El proceso de regeneración al completarse ocasiona un aumento de las *chalone*s y el regreso al ritmo de recambio normalmente lento (Lesson *et al*, 1990).

Las células de Kupffer, son las células de función fagocítica del hígado que se localizan en los espacios sinusoidales del lobulillo hepático. Tienen forma ameboidea y su citoplasma está lleno de lisosomas de diferentes formas y densidades: contiene abundante fosfatasa ácida. La superficie de las células de Kupffer presenta abundantes vellosidades, arrugas y rebordes.

Estudios radiográficos han indicado la posibilidad de que en lesiones hepatocelulares las células de Kupffer proliferan en el hígado (Bockus, 1987).

Las células estelares hepáticas también conocidas como lipocitos o células de Ito se localizan en el espacio perisinusoidal (espacio de Disse). Representan cerca del 15% del número total de células residentes en el (Arias, 2001).

La mayor característica de las células estelares, es la presencia de gotas citoplásmicas, las cuales almacenan lípidos y vitamina A. El número de gotas varía de acuerdo a la especie y a la abundancia de vitamina A en el organismo. El volumen de las gotas que almacenan vitamina A difieren dependiendo de la posición intralobular de las células. La vitamina A está más concentrada en la región periportal que en la región pericentral.

Son células que tienen un efecto regulador sobre el flujo sanguíneo a través de los sinusoides (Geneser, 2000) y juegan un papel central en respuestas de daño hepático, debido a que generan el factor de crecimiento α (TGF α) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), ambos son factores de crecimiento epitelial los cuales son importantes en la proliferación de hepatocitos durante la regeneración del hígado (Arias, 2001).

2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

Con base en los antecedentes presentados en otros estudios (Fortoul *et al*, 2002) sobre la toxicidad del vanadio en diversos órganos, cuando se administra por vía oral y parenteral, es probable que por vía inhalada también cause efectos dañinos en el hígado, ya que el vanadio es absorbido en los alvéolos pulmonares y fácilmente puede pasar a torrente sanguíneo. Actualmente no se han reportado estudios sobre los efectos del vanadio por vía inhalada por lo que es importante su estudio por ser ésta una ruta de ingreso al organismo. El presente estudio tiene como propósito identificar las posibles alteraciones morfológicas en hígado de ratones macho CD-1 como consecuencia de la inhalación de vanadio.

3. HIPÓTESIS

Si el vanadio es un metal tóxico, que causa alteraciones en el organismo, entonces será factible que en un modelo experimental de inhalación agudo y subcrónico de pentóxido de vanadio (V_2O_5) se encuentren alteraciones morfológicas en el hígado de ratón.

4. OBJETIVO

Identificar las alteraciones morfológicas por microscopía de luz y microscopía electrónica de transmisión en hígado de ratón en un modelo experimental de inhalación agudo y subcrónico.

5. MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron 20 ratones macho de la cepa CD-1 con un peso promedio de 30 g. los cuales fueron sometidos a la inhalación de V_2O_5 por 30 minutos, dos veces por semana durante 4 semanas. Quince animales inhalaron una concentración de 0.02M y 5 ratones sirvieron como controles exponiéndose a la inhalación de agua bidestilada y desionizada de la misma forma que los ratones expuestos a vanadio. Se formaron 5 grupos de cuatro animales cada uno (3 ratones expuestos y 1 control), los cuales correspondieron a cada semana excepto en la 1ª semana que se utilizaron dos grupos.

A. Método de inhalación

Para llevar a cabo las inhalaciones, los ratones se colocaron en una caja de acrílico transparente de 31.47cm^3 a la que se le conectó un ultranebulizador (Ultra Neb 99 DeVilbis), con un flujo de 10 l/min. Para hacer la solución de V_2O_5 0.02M se pesó 0.9095 g disueltos en 250 ml de agua bidestilada y desionizada. Después de cada inhalación (Tabla 3), los animales fueron colocados en sus respectivas cajas, dándoles libre acceso al agua y al alimento comercial(Purina).

Tabla No. 3 Esquema de inhalaciones

	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES
1ª Semana	1ª Inhalación 7:00 am	Sacrificio 10:00 am	2ª Inhalación 7:00 am	Sacrificio 10:00 am
2ª Semana	3ª Inhalación 7:00 am		4ª Inhalación 7:00 am	Sacrificio 10:00 am
3ª Semana	5ª Inhalación 7:00 am		6ª Inhalación 7:00 am	Sacrificio 10:00 am
4ª Semana	7ª Inhalación 7:00 am		8ª Inhalación 7:00 am	Sacrificio 10:00 am

B. Técnica de sacrificio

Los sacrificios se realizaron 24 horas después de que los animales concluyeran su tiempo de inhalación. Semanalmente se sacrificaron 4 ratones de los cuales 3 fueron expuestos y 1 control, excepto en la primera semana en la que hubo dos sacrificios (6 expuestos y 2 controles) de esta manera obtuvimos inhalación aguda en el primer día y subcrónicas en los siguientes (tabla 3).

Los ratones se anestesiaron con pentobarbital sódico 0.35 ml por vía intraperitoneal aproximadamente por ratón, posteriormente se fijó el ratón en una plancha de parafina y se hizo una incisión desde el abdomen hasta el cuello, haciendo la perfusión por vía intracardiaca lavando con solución salina con pH 7.4. De la misma forma se fijó con glutaraldehído 0.1M con pH 7.4.

Se tomaron muestras de hígado del animal para ser procesado con la técnica de microscopía de luz y microscopía electrónica de transmisión.

C. Procesamiento del tejido

C I. Microscopía de luz

Se tomó un fragmento de hígado y se procedió a realizar la Técnica Histológica usual; Fijación, Deshidratación, Aclaración, Inclusión, Corte, Tinción (Hematoxilina - Eosina) y Montaje.

Para determinar el daño morfológico causado por la inhalación aguda y subcrónica de pentóxido de vanadio en el parénquima hepático, con microscopía de luz, se tomaron valores arbitrarios para poder definir el grado de lesión (tabla 4).

C II. Microscopía. electrónica de transmisión

Se cortaron pequeños fragmentos de hígado y se colocaron en glutaraldehído al 0.1M durante 1 hora para su fijación. Posteriormente se postfijaron, en tetraóxido de osmio al 2% durante 2 horas y se prosiguió a la deshidratación gradual con alcoholes del 80 hasta el 100% y se incluyeron en Araldita 6005 (resina epóxica). Se hicieron cortes semifinos con un ultramicrotomo REICHERT- JUNG, de los que se seleccionaron los campos para hacer los cortes finos (60 nm), los cuales se contrastaron con acetato de Uranilo y citrato de Plomo para su posterior observación en un microscopio electrónico Zeiss EM-10.

Tabla No. 4 Parámetros arbitrarios de calificación para la identificación de las lesiones hepáticas (Microscopía de Luz).

GRADO DE LESIÓN	ALTERACIÓN MORFOLÓGICA
0	Normal o control
1	Focos de infiltrado inflamatorio en menor extensión.
2	Esteatosis micro y macrovesicular moderada
3	Esteatosis macro y micro vesicular severa y focos de infiltrado inflamatorio en mayor extensión.

6. RESULTADOS

Microscopía de luz

En los animales control se observó el parénquima hepático de características normales, con: hepatocitos de bordes poliédricos, núcleos prominentes de cara abierta, formando columnas. Se apreció además la presencia de una vena central. No hay infiltrado inflamatorio y los hepatocitos muestran pequeñas y escasas gotitas de grasa (Figura 4).

A las 24 horas después de la primera inhalación se observó la presencia de gran cantidad de gotas claras de grasa que corresponden a lo que se conoce como esteatosis, ubicadas en todo el parénquima hepático con una predominancia cerca de del espacio portal, además de un pequeño foco de infiltrado

inflamatorio cerca de la vena central (Figuras 5a y 5b). En la segunda inhalación (1^ª semana), comparado con el control y la exposición previa hay una gran cantidad de gotas de grasa ubicadas en la periferia de los hepatocitos (Figura 6). En la 2^ª semana, el infiltrado inflamatorio aumenta en extensión, dado principalmente por neutrófilos y eosinófilos. Las gotas de grasa disminuyen notablemente con un patrón parecido al de los animales control (Figura 7). En la 3^ª y 4^ª semana, el infiltrado continuó aumentando, pero sin progresión de la esteatosis (Figuras 8a y 8b).

Microscopía electrónica de transmisión

En los animales control se observaron hepatocitos normales con uno o dos núcleos centrales prominentes al igual que con uno o varios nucléolos, numerosas mitocondrias en el citoplasma, con crestas visibles, así como varios complejos de Golgi, también se observó la presencia de cúmulos dispersos de retículo endoplásmico rugoso, retículo endoplásmico liso y numerosos espacios vacíos en el citoplasma con formas irregulares y redondas que distingue a las inclusiones de glucógeno y de grasa (Figuras 9 y 10).

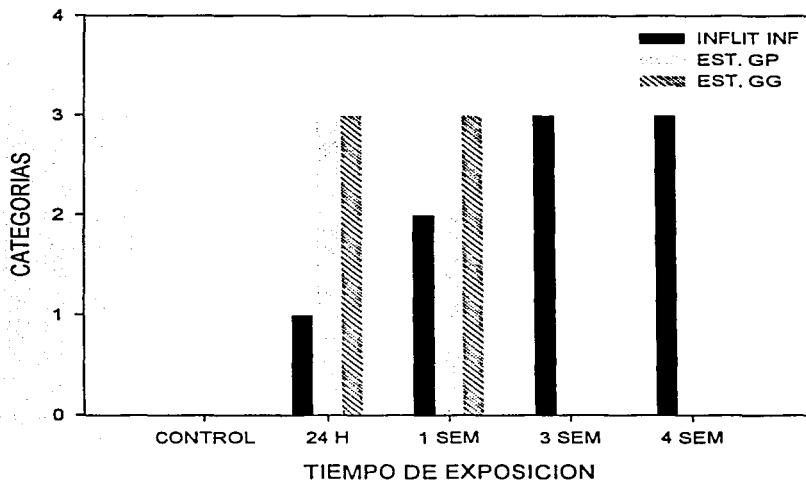
De la segunda exposición (1^ª semana) a la cuarta exposición (2^ª semana) se observó un deterioro del hepatocito debido a que las mitocondrias se observan muy electrondensas, así, como también el retículo endoplásmico rugoso se encuentra muy dilatado (Figuras 11 y 12).

En la 4^ª semana de exposición (8 inhalaciones) se observó una recuperación debido a que gran cantidad de mitocondrias se encuentran normales, con

crestas visibles. Las vacuolas observadas representan las gotas de grasa que en el hígado es completamente normal (Figura 13).

La evolución de las alteraciones observadas en el hígado a causa de la inhalación de vanadio se muestra en la gráfica No. 1

GRÁFICA No. 1
CAMBIOS HISTOLOGICOS EN HIGADO
SECUNDARIOS A LA INHALACION DE VANADIO



INFILT. INF Infiltrado inflamatorio
EST. GP Esteatosis Gota pequeña
EST. GG Esteatosis Gota Grande

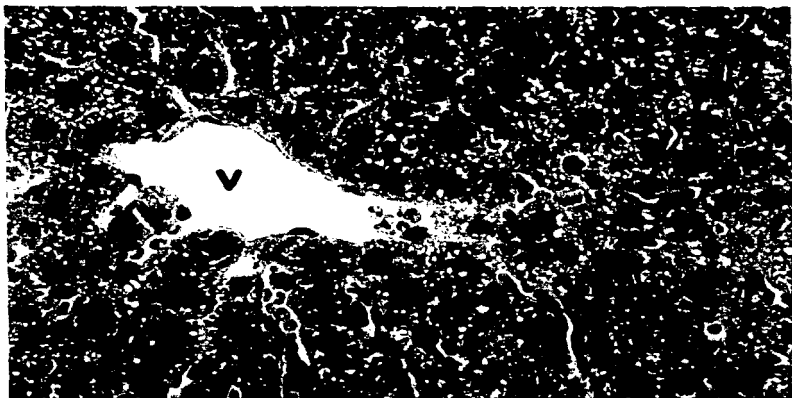


Fig 4. Parénquima hepático que muestra la estructura normal del hígado de ratón, observándose una vena central (v) e hileras de hepatocitos (h) (HE 100X).

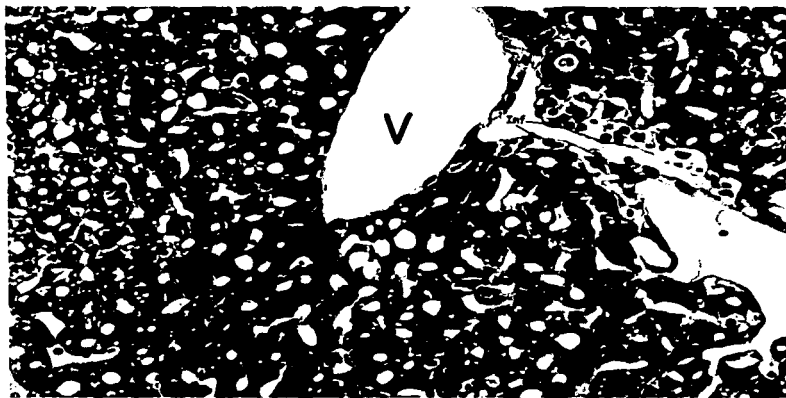


Fig 5a. Es notoria la presencia de esteatosis micro y macrovesicular (E) a las 24 hrs. de exposición. Vena central (V), canalículo biliar (CB), y un pequeño foco de infiltrado inflamatorio (Inf) (HE 200X)

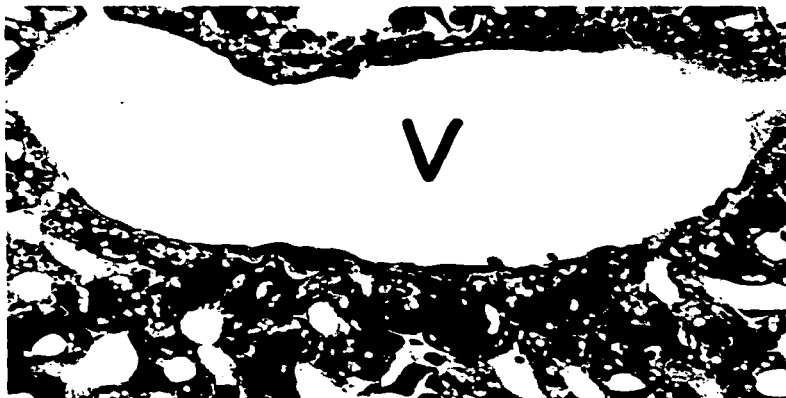


Fig 5b. Amplificación de la figura 5a donde se observa una vena central (V) así como gotitas de grasa (*) (HE 400X).



Fig 6. Parénquima hepático que muestra esteatosis microvesicular localizada predominantemente en la periferia de los hepatocitos(▲) a la 1ª semana de exposición (HE 400X).

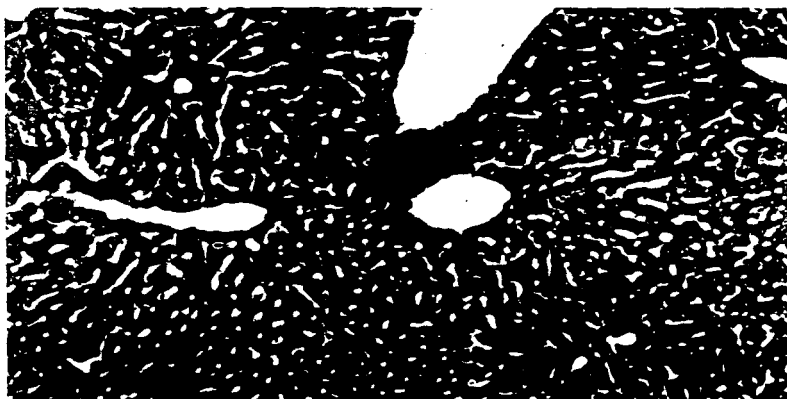


Fig 7. Durante la 2ª semana de exposición hubo una disminución importante en la esteatosis, apreciándose un pequeño foco de infiltrado inflamatorio (Inf) (HE 100X).



Fig 8a. En la 3ª semana de exposición el infiltrado inflamatorio (Inf) fue más abundante, principalmente cercano a la vena central (HE 100X).

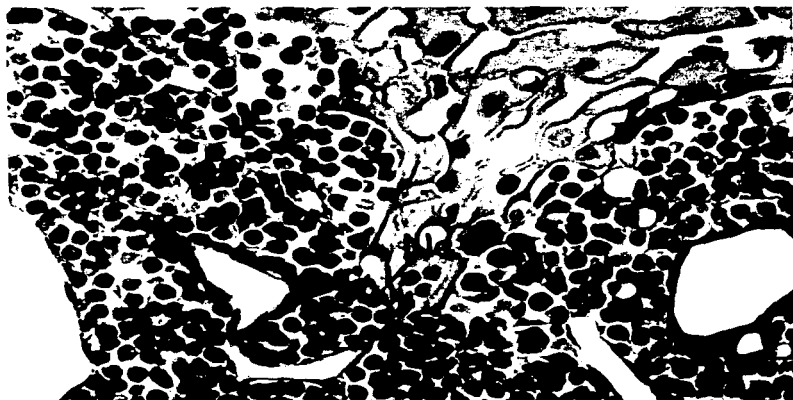


Fig 8b. Amplificación de la figura 8a donde el infiltrado esta constituido predominantemente por neutrófilos (Ne) y escasos eosinófilos (Eo) (HE 400X).

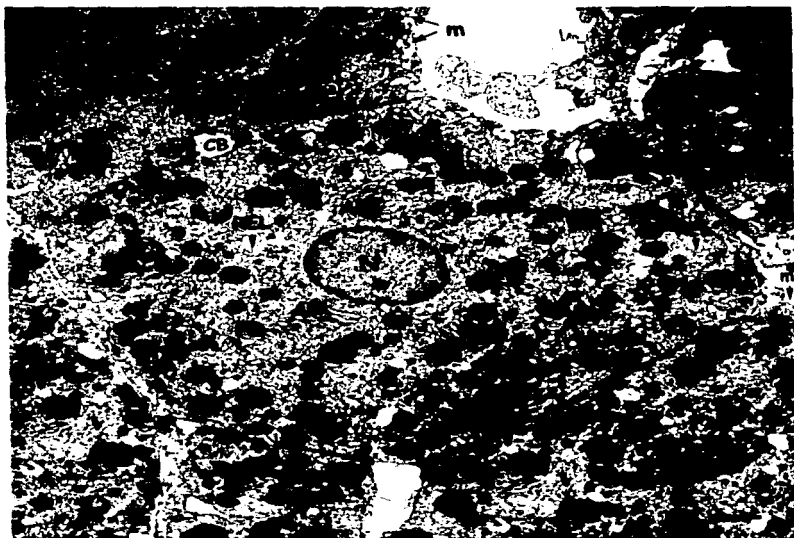


Fig 9. Micrografía electrónica de un animal control que muestra un hepatocito con su núcleo central (N), gran cantidad de mitocondrias (M), Aparato de Golgi (AG), retículo endoplásmico liso (REL), canaliculos biliares (CB) y microvellosidades en los bordes de la célula (m). Escala = 1.6 μ m

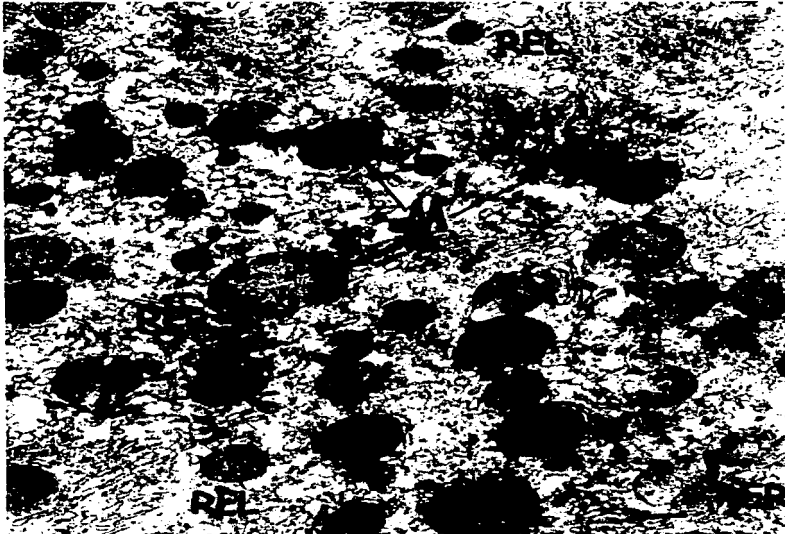


Fig 10. Muestra control en la que se aprecia el parénquima hepático observando gran cantidad de mitocondrias (M), retículo endoplásmico liso (REL) y retículo endoplásmico rugoso (RER). Escala = 6 μ m

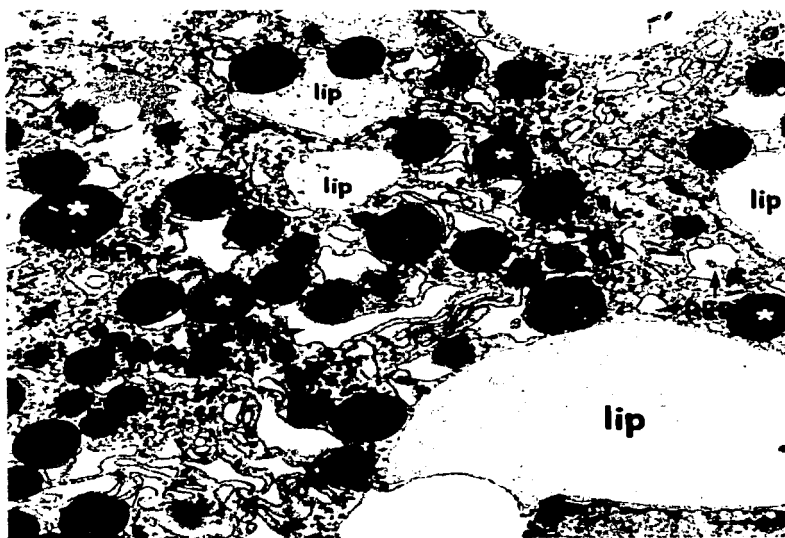


Fig 11. Después de la 1ª semana, se observan mitocondrias electrondensas (*), así como también retículo endoplásmico rugoso dilatado (RER) y espacios que corresponden al contenido lipídico acumulado (lip) que se extrajo durante el proceso. Escala = 4.8 μ m

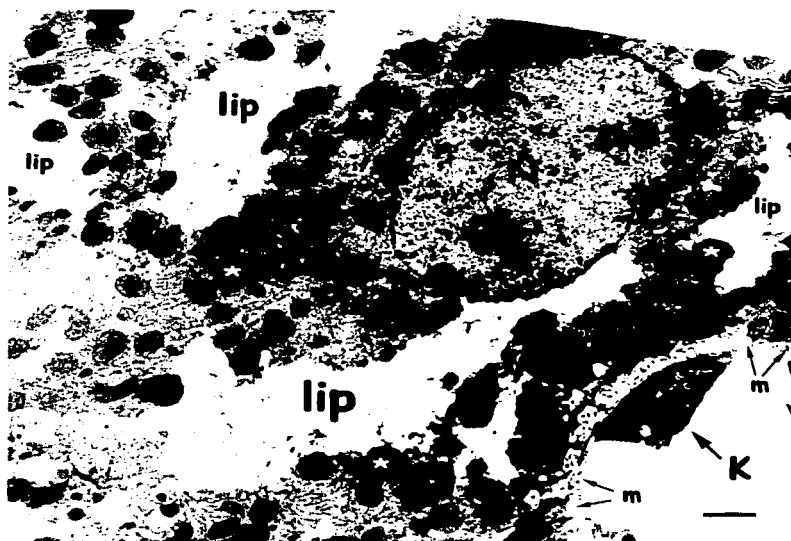


Fig 12. Hepatocito que muestra vesículas de gran tamaño que indican acumulación de lípidos (lip), mitocondrias (*) electrondensas, núcleo (N), microvellosidades (m) en el dominio sinusoidal donde se localiza una célula de Kupffer (K), después de la 2ª semana. Esquema = 1.9µm

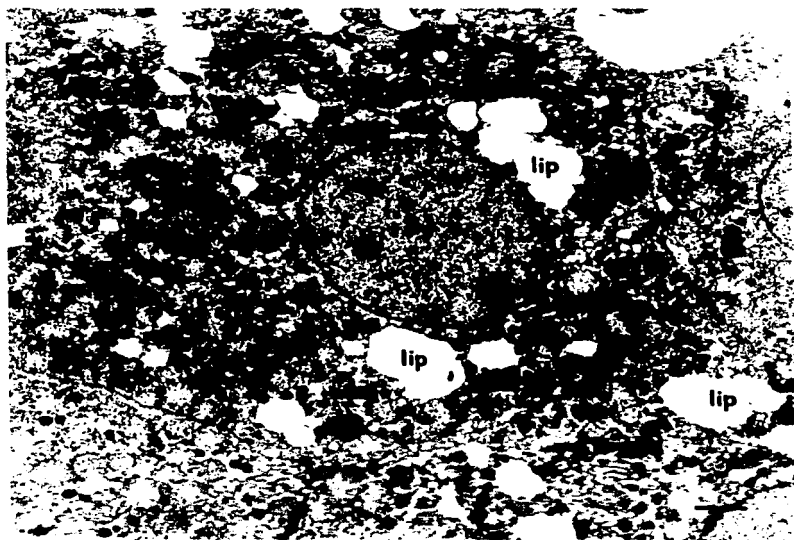


Fig 13. Después de la última inhalación, las mitocondrias (M) se acercan a la normalidad, observándose menos electrondensas; núcleo central (N), espacios definidos que indican acumulación de lípidos. Escala=1.4 μ m

DISCUSIÓN

Como se menciona en la introducción, el vanadio es un elemento de gran interés, ya que se ha reportado su aumento en el ambiente en los últimos años (Mendoza, 2000), que se ha reflejado como un incremento en el tejido pulmonar de residentes de la Ciudad de México (Fortoul *et al*, 2002). La toxicidad, biodistribución y la esencialidad del vanadio, así como su actividad farmacológica y sus posibles efectos fisiológicos, son temas de interés, ya que el papel que juega en los organismos superiores aún no está claramente definido (www.ancefn.org.ar/comunicar/acadeO2.html).

Al analizar el hígado de los animales expuestos a V_2O_5 observamos que dicha exposición provocó cambios evidentes en la morfología del órgano.

Alteraciones morfológicas:

El hígado, al ser uno de los grandes filtros del organismo, es fácil blanco del efecto tóxico de diversos elementos y como pudimos comprobar, esto ocurre también por la inhalación de Vanadio, dando alteraciones no específicas, pero muy evidentes.

Uno de los primeros cambios que identificamos fue la presencia de un aumento en el número de pequeñas gotitas de grasa, dando lo que se conoce como hígado graso que puede o no progresar hacia la esteato-hepatitis, que implica la presencia de infiltrado inflamatorio, que al parecer favorece el posterior daño de las células hepáticas (Arias, 2001). La esteatosis micro-vesicular parece presentarse como consecuencia del daño mitocondrial que resulta de una

alteración en la β oxidación y alteración en la respiración celular con una disminución en la producción de ATP (Su *et al*, 1999). Este patrón microvesicular se ve con mas frecuencia en alteraciones hepáticas secundarias a la administración de medicamentos o drogas, tales como: tetraciclinas, ácido valproico y algunos agentes anti-inflamatorios no esteroideos. (Berson *et al*, 2001; Pessayre *et al*, 2001; Su *et al*, 1999; Larrey, 2000, Koteish *et al*, 2001, Krähenbühl, 2001); y una disminución en la producción de lipoproteínas por el hígado (Su *et al*, 1999; Larrey, 2000).

Otro cambio observado fue la presencia de un patrón macro-vesicular en el acumulo de grasa (esteatosis) después de la exposición aguda (1ª inhalación) la cual se identificó por la presencia de gotas de grasa mas grandes, pero en menor cantidad, comparadas con la micro-vesicular. El patrón macro-vesicular disminuyó en las siguientes exposiciones. El por qué se presenta un patrón diferente no lo sabemos pero posiblemente se deba a una composición diferente de los lípidos acumulados, o bien a que las gotas pequeñas coalescen desplazando al núcleo hacia la periferia de la célula, pudiendo ocasionar ruptura de estas células provocando la unión de las pequeñas gotas de cada una de las células originando a los quistes grasos, lo cual es un forma grave de lesión ya que es precursor de muerte celular (Robbins, 2000).

La esteatosis no es una lesión específica al tóxico que evaluamos, ya que cambios similares se han reportado por la exposición a otros agentes tóxicos como lo son: medicamentos (Su *et al*, 1999; Larrey, 2000), etanol (Pérez Tamayo, 1990; Su *et al*, 1999), enfermedades como obesidad, diabetes (Rubbia- Brandt *et al*, 2000), así como también, en el transplante de hígado

(Seifalian *et al*, 1999; Su *et al*, 1999); pero sí podemos decir que estos cambios son propiciados por la exposición a vanadio debido a que es un agente hepatotóxico. Este cambio es reversible, ya que al eliminarse el agente tóxico la célula tiene la capacidad de recuperarse y volver a adquirir su estructura y niveles funcionales normales (Bockus, 1987), pero si continua el daño hepático puede llevar a una fibrosis y/o cirrosis hepática (Su *et al*, 1999). Nuestros resultados mostraron que posteriormente a la exposición de V_2O_5 , el hígado se recupera de la esteatosis aún cuando no se haya eliminado el agente tóxico, ya que a partir de la 4ª inhalación se comienza a ver un decremento de gotas de grasa. Cuando la esteatosis es leve puede no causar ningún efecto sobre la función celular del órgano aún cuando la morfología de la célula este muy alterada, pero cuando es grave si puede deteriorar la función celular siempre y cuando deteriore de forma irreversible procesos intracelulares vitales (Robbins, 2000).

Las causas de la esteatosis se clasifican en tres grupos: 1. dietéticos, 2. anóxicas y 3. tóxicas. En nuestro modelo conocemos que es a consecuencia de un tóxico como sucede también con etanol, tetracloruro de carbono (CCl_4), etc, donde se ha establecido que el mecanismo de acción también interfiere con la síntesis de proteínas (Bockus, 1987; Larrey, 2000). Esta alteración se presenta con mayor frecuencia en el hígado porque se trata del órgano principal implicado en el metabolismo de las grasas (Pérez-Tamayo, 1990), presentándose en diversas circunstancias como anomalía única de la estructura hepática cuándo la función del órgano no es normal (Bockus, 1987).

Por otra parte, en cuanto al infiltrado inflamatorio observado a la 2ª inhalación (una semana) este estuvo formado principalmente por eosinófilos y neutrófilos localizados predominantemente en la zona centrolobular, (Larrey, 2000; Dong

et al, 1998), lo cual indica una respuesta inflamatoria que de acuerdo a Robbins (2000) corresponde a un proceso de reparación el cual se inicia en las fases iniciales de la inflamación y finaliza hasta que el estímulo haya cesado. De acuerdo con esta propuesta nuestros resultados mostraron un aumento gradual en el infiltrado inflamatorio, el cual fue proporcional al número de inhalaciones; esto parece corresponder a un patrón de respuesta relacionado con la dosis a la que los animales fueron expuestos.

El análisis ultraestructural en los diferentes tiempos después de la exposición a V_2O_5 reveló que este metal genera alteraciones, comenzando a manifestarse desde la segunda inhalación alcanzando su máximo hacia la sexta. Lo que se observó fue una alteración caracterizada por una modificación en las densidades habituales de las mitocondrias -mitocondrias electrondensas-, cisternas de retículo endoplásmico rugoso dilatadas y grandes vacuolas de lípidos en el citoplasma. Todo esto corresponde al resultado de un proceso tóxico (Krähenbühl, 2001). Una posible explicación de lo anterior es que el daño producido en el hígado se manifestó en daño mitocondrial debido a que las mitocondrias son el blanco habitual de la toxicidad por metales, ya que es en ellas en las que se realiza una función importante en la producción de energía celular además de sus numerosas vías metabólicas, y que en este organito se encuentra una cantidad importante de metales con los que el V puede interactuar, lo mismo que fósforo, elemento con el cual en V tiene gran competencia (Krähenbühl, 2001). Son múltiples los mecanismos que pueden afectar a las mitocondrias por la inducción de tóxicos como: 1. la inhibición del flujo de electrones a través de la cadena de transporte; 2. desacoplamiento en la fosforilación oxidativa; 3. inhibición en el metabolismo de los ácidos grasos,

particularmente la β - oxidación mitocondrial de ácidos grasos; 4. daño en el DNA mitocondrial por oxidación o por la inhibición en la síntesis del DNA. Debido a la presencia de esteatosis podemos sugerir que la ruta alterada en nuestro modelo es la inhibición en la β - oxidación de los ácidos grasos. Tanikawa (1979) observaron en estudios realizados con CCl_4 , que el RER sufre una marcada alteración por la dilatación de sus cisternas, ocasionada por una alteración en la síntesis de proteínas debido a que el RER está implicado en la acumulación de triglicéridos en el hígado, estas anomalías también se han observado en personas que han tenido contacto con vapores de vanadio por lo que se asume que el hígado graso también se origina a consecuencia de una alteración en la síntesis de proteínas.

Por otro lado, recientemente se ha descrito que la exposición a V intraperitoneal es capaz de inducir en diferentes células la producción de IL-6, IL-8, $TNF\alpha$, IL-1 y $PgE2$ que inducen inflamación y que pueden tener relación con la progresión de la lesión hepática (Huang *et al*, 2001).

7. PROPUESTAS

- ✘ En un próximo planteamiento será interesante identificar qué factores intervienen en el daño que el V ocasiona al hígado, qué ocurre con las otras células del parenquima hepático - estelares, Kupffer, endoteliales, etc-.

- ✘ El V y otros metales son poco estudiados y hay poca información sobre éstos y sus efectos en otros órganos cuando entran por la vía inhalada.

- ✘ Más estudios sobre este metal deben llevarse a cabo para identificar sus mecanismos de daño y posiblemente utilizar estos resultados para ayudar a disminuir su efecto tóxico.

8. CONCLUSIONES

- ✗ Nuestros resultados muestran que en el modelo experimental de inhalación aguda y subcrónica de V_2O_5 (0.02M) en ratón se encontró la presencia de alteraciones en el tejido hepático que fueron evidentes desde la exposición aguda hasta el final del estudio.

- ✗ El cambio inicial más evidente fue la presencia de esteatosis, tanto micro y macrovesicular.

- ✗ Como parte de las acciones del V, se observó también la presencia de infiltrado inflamatorio que aumentó en relación directa con el número de inhalaciones, que posiblemente este en relación a la concentración del metal en el tejido.

- ✗ Las mitocondrias se vieron afectadas desde la primera semana de inhalación, hecho que pudo favorecer la progresión de la alteración hepática

- ✗ La dilatación del RER que se encontró implicaría funcionalmente una alteración en la síntesis proteica.

ESTA TESIS NO SALIÓ
DE LA BIBLIOTECA

9. BIBLIOGRAFÍA

- ✗ Amdur M O, Doull J, Klaassen C D. **Casarett and Doull's Toxicology the basic science of poisons**. Pergamon Press. USA. 1991. 4º ed. 1033

- ✗ Andrade V, Sánchez H. 1997. **Educación ambiental**. Ecología. Trillas. 4º Edición. México. 160 pp.

- ✗ Arias, M.I. **The liver**. 2001. 4th ed. Philadelphia, Lippincott, Williams and Wilkins. pp 739-744.

- ✗ Banks W J. 1986. **Histología veterinaria aplicada**. El Manual Moderno. México. 730 pp.

- ✗ Barceloux D G. 1999. Vanadium. **Clinical Toxicology**. USA. 37 (2), pp 265-278

- ✗ Bardana E J. Contaminantes Del aire. **Revista Alergia**. México. 1993. 3: 51-53

- ✗ Berson A, Letteron P, Robin MA, Mureau C, Elkahwaji J, Verthier N, Feldmann G, Fromenty B, Pessayre D. Steatohepatitis-inducing drugs cause mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation in rat hepatocytes. **Gastroenterology**. 1998; (114): 4: 764-774

- × Bockus. 1987. *Gastroenterology*. Tomo V. 4ª ed. Estados Unidos. 580 pp.
- × Bravo H, Sosa R, Torres R. *Ozono y lluvia ácida en la Ciudad de México*. Ciencias. 1991; (22): 33-40
- × Dong W, Simeonova P, Gallucci R, Matheson J, Flood L, Wang S, Hubbs A, and Luster M. Toxic metals stimulate inflammatory cytokines in hepatocytes through oxidative stress mechanisms. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1998; 151: 359-366
- × Elkins H B. 1959. *The chemistry of industrial toxicology*. 2ª Edición. USA. 452 pp.
- × Espinosa A H. *Influencia de ocho elementos químicos en la respuesta inmunitaria*. Tesis de Licenciatura Facultad de Química UNAM. México. 1989.
- × Fawcett W. 1988. *Tratado de Histología*. 12ª ed. Interamericana Mc Graw-Hill. España. 1044 pp.
- × Fortoul T I, Saldivar O L, Tovar T A, Salazar D, Castilla M E, Olaiz-Fernández G. Metals in Lung Tissue from Autopsy Cases in Mexico City Residents: Comparison of Cases from the 1950s and the 1980s. *Environmental Health perspectives*. 1996; (104): 6; 630-632.

- ✕ Fortoul, T I, Mendoza M L, Avila -Casado M C, Quan Torres A, Saldivar O L, Espejel-Maya G, Sánchez I, López I, Bizarro P, Ávila Costa MR, Colín Barenque L, Navarro Villanueva D and Olaiz F G. Is vanadium in the air a problem? Lung tissue as a source of inflammation: Study in Mexico City residents autopsies from the sixties and the nineties. **Arch Enviromental Health**. 2002. (Aceptado)

- ✕ Gartner L y Hiatt J. 1997. **Histología Atlas y Texto**. Mc Graw- Hill. Interamericana. México. 506 pp.

- ✕ Geneser F. 2000. **Histología**. Médica Panamericana. México. 813 pp.

- ✕ Godish T. 1991. **Air Quality**. Lewis. Chesea, Michigan. 422 pp.

- ✕ Goyer R.A., Mehlman, M.A. Toxicology of trace elements. **John Wiley and Sons Inc**. 1997; Vol: 2 Cap: 6. pp 147- 188.

- ✕ Guevara J A. 1996. **Una semblanza de la química bioinorgánica del vanadio**. Profesores al día. Puebla, México. pp 185-189.

- ✕ Gutiérrez D. 1986. **Efectos por la altitud de la contaminación atmosférica en la Cuenca del Valle de México**. Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. XXV serie de mesas redondas. Ed del MIR, A.C. México. 256 pp.

- × Ham A. 1975. **Tratado de Histología**. 7ª Edición. Interamericana. México 936 pp.

- × Heres, M., Chávez, C., Muñoz, A. 1995. **Educación Ambiental**. Patria. 1ª Edición. México. 184 pp.

- × <http://www.galenet.galegroup.com/servlet/SR...on&n=10&1=do&locID=unam&op2=AND&op1=AND>
- × <http://www.jhuccp.org/prs/sm15/m15chap2.stm>
- × <http://www.texascenter.org/publications/torreon.pdf>

- × Huang C, Ding M, Li J, Leonard SS, Rojanasakul Y, Castranova V, Vallyanthan V, Ju G and Shi X. Vanadium induced Nuclear factor of activated T cells activation through hydrogen peroxide. **Journal Biological Chemistry** 2001; 276: 22397-22403.

- × International Programme on Chemical Safety (IPCS). Vanadium and some vanadium salts. **Health and Safety Guide**. 1990; No. 42. Geneve, WHO

- × International Programme on Chemical Safety (IPCS). Vanadium Pentoxide and Other Inorganic Vanadium Compounds. **Health and Safety Guide**. Geneve, WHO, 2000.

- × Koteish A, Diehl A. Animal Models of Steatosis. **Seminars in Liver Disease**. 2001; 21: 89-104.

- ✗ Krähenbühl, S. Mitochondria: important target for drug toxicity? **Journal of Hepatology**. 2001; 34: 334-336

- ✗ Larrey, D. Drug- induced liver diseases. **Journal of Hepatology**. 2000; 32: 77-88.

- ✗ Léonard A, Gerber, G B. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of vanadium compounds. **Mutation Research**. 1994; 317: 81-88.

- ✗ Lesson T, Lesson R, Paparo A. 1990. **Texto y Atlas de Histología**. Interamericana. Mc Graw- Hill. México. 741 pp.

- ✗ López M I. **Alteraciones alveolares secundarias a la inhalación aguda de diferentes dosis de cloruro de cadmio (0.006 y 0.012 M) en ratón**. Tesis para Biólogo. UNAM. México. 1994.

- ✗ Mahanan E S. 1992. **Toxicological chemistry**. 2ª Edición. Lewis Publishers. USA. 449 pp.

- ✗ Maynard R L. Air Pollution: Should we be Concerned About it? **Journal of the Royal Society of Medicine**. 1993; 86: 63-64.

- ✗ Mendoza P M. **Determinación de manganeso y vanadio en tejido pulmonar humano en casos de autopsia por espectrofotometría de**

absorción atómica. **Estudio comparativo entre las décadas de los 60's y los 90's.** Tesis para Químico Farmacéutico Biólogo. UNAM. México. 2000.

× Nriagu J O. 1990. **Vanadium in the environmental.** Part2: Health Effects. John Wiley and Sons, Inc. Cap: 1, 16. 1-19, 317-341 pp.

× Nriagu J O, Pacyan J M. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. **Nature.** 1988; 333: 134-139.

× Pérez- Tamayo. 1990. **Principios de Patología.** 3ª ed. México. 3214 pp.

× Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. **Seminar Liver Disease.** 2001; 21: 57-69.

× Prescott G J, Lee R J, Cohen G R, Elton R A, Lee A J, Fowkes F G, Angius R M. Investigation of factors which might indicate susceptibility to particulate air pollution. **Occupational & Environmental Medicine** 2000; 51: 53-57.

× Rehder D. Structure and function of vanadium compounds in living organisms. **Biometals.** 1992; 5: 3-12.

× Robbins S, Cotran R, Kumar V. 1990. **Patología estructural y funcional.** Mc Graw- Hill- Interamericana. España. 1474 pp.

✕ Rubia- Brandt L, Quadri R, Abid K, Giostra E, Malé P, Mentha G, Spahr L, Zarski J, Borisch B, Hadengue A, and Negro F. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. **Journal of Hepatology**. 2000; 33: 106-115.

✕ Sánchez C I, **Cloruro de cadmio inhalado y daño bronquiolar**. Estudio experimental agudo con diferentes dosis en ratón. Tesis para Biólogo. UNAM. México. 1994.

✕ Seifalian A M, Piasecki C, Agarwal and A, Davidson B.R. The effect of graded steatosis on flow in the hepatic parenchymal microcirculation. **Transplantation**. 1999; 68: 780-784.

✕ Su M G, Rachel M, Sefton M and Murray M. Down-Regulation of Rat Hepatic Microsomal Cytochromes P-450 in Microvesicular Steatosis Induced by Orotic Acid. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 1999; 3: 953-959.

✕ Tanikawa K. 1979. Liver Pathology Cap. 3 en Trump B.F. y Jones R.T. "Diagnostic Electron Microscopy" New York, JohnWiley & Sons. pp 15-46.

✕ Tsalev L, Zaprianov. 1984. **Atomic Absorption spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice**. Analytical Aspects and Health Significance (1). Florida. pp 106-112

✕ Turk A B. 1973. **Ecología-Contaminación. Medio ambiente Interamericana. México. 227 pp.**

✕ Valverde M, López M C, López I, Sánchez I, Fortoul T, Ostrosky - Wegman P and Rojas E. DNA Damage in Leukocytes and Buccal and Nasal Epithelial cells of Individuals exposed to air pollution in Mexico City. **Environmental and Molecular Mutagenesis. 1997; 30: 147-152**

✕ World Health Organization (WHO). **Environmental Health Criteria 81: Vanadium** IPCS, UNEP, ILO, WHO, Suiza, 1988. 1-31 pp.