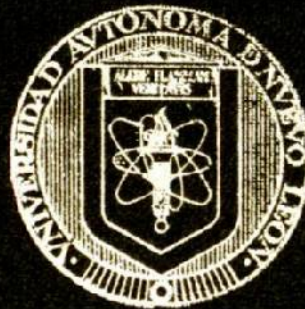


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA



**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION
TRANSPLACENTARIA DE ALCOHOL EN EL
DESARROLLO DEL PULMON DE RATA**

Por

M.C.P. y M.C. MARIA GUADALUPE MORENO TREVIÑO

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en
Morfología

Junio 2002

M.C.P. y M.C. MARIA GUADALUPE MORENO TREVINO

TD
RC756
.M6
2002
c.1



1080114181

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



**EFECTO DE LA ADMINISTRACION TRANSPLACENTARIA
DE ALCOHOL EN EL DESARROLLO DEL PULMON
DE RATA**

Por

M.C.P. y M.C. MARIA GUADALUPE MORENO TREVIÑO

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en
Morfología**

Junio 2002

TD
RC756
· ML
2002



**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN TRANSPLACENTARIA DE ALCOHOL EN
EL DESARROLLO DEL PULMÓN DE RATA**

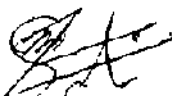
Aprobación de la Tesis:



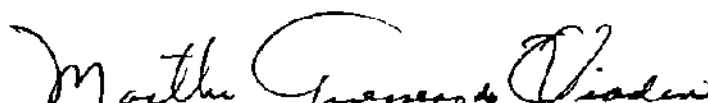
DR. NORBERTO LOPEZ SERNA
Director de Tesis




DR. JULIO SEPÚLVEDA SAAVEDRA
Co-Director de Tesis



DR. JUAN MANUEL SOLIS SOTO
Comisión de Tesis



DRA. MARTHA GUERRERO DE VIADER
Comisión de Tesis



DR. JOSE MARIA VIADER SALVADO
Comisión de Tesis



DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO
Subdirector
de Investigación y Estudios de Posgrado

**“EFECTO DE LA ADMINISTRACION TRANSPLACENTARIA DE
ALCOHOL EN EL DESARROLLO DEL PULMON DE RATA”**

Presentado por:

M.C.P. y M.C. María Guadalupe Moreno Treviño

Este trabajo se realizó en los departamentos de Embriología e Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León bajo la Dirección inicial de la Dra. Guadalupe Arredondo de Arreola continuando el Dr. Norberto López Serna como director de la tesis y el Dr. Julio Sepúlveda Saavedra como Co-Director.

FIRMAS

Director de Tesis

Co-Director de Tesis

**M.C.P y Dr. Med. NORBERTO LOPEZ
SERNA**

**M.C.P. y Ph.D. JULIO SEPULVEDA
SAAVEDRA**

DEDICATORIA

Con todo mi ser
a mi padre DIOS

Por que en los momentos más difíciles de mi vida donde me fue imposible dar un paso más, me tomó entre sus brazos y empezó a caminar y hoy entiendo que de no haber sido así, yo no hubiese podido llegar aquí.

Gracias Señor

María Guadalupe Moreno Treviño

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis hijos **Raúl y Fátima** por su amor, paciencia y comprensión ya que ellos son el motor de mi vida.

Agradezco a mis padres **Gerardo y Guadalupe** por darme no solo el privilegio de la vida sino, por enseñarme el valor del amor, la verdad, el respeto y por guiarme para poder defender por sobre todas las cosas mi dignidad e integridad.

Agradezco a **Sergio Argoitia Fernández** por su amor, compañía y por que devolvió a mi vida cosas maravillosas que había olvidado.

Agradezco a mis hermanos **Mónica, Felipe, Socorro y Verónica** y a sus familias por su atención y apoyo incondicional.

Agradezco infinitamente a la **Universidad Autónoma de Nuevo León** por haberme aceptado como su hija académica desde el Bachillerato, Licenciatura, Maestría y actualmente Doctorado, imprimiendo en mí el sello Universitario, siendo este en mi desarrollo profesional la mejor carta de presentación.

Agradezco al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por haberme otorgado la beca de manutención con registro número 89885 para la obtención del grado de Doctor en Ciencias con especialidad en Morfología.

Agradezco a los miembros del Postgrado de la **Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León** por aceptarme como estudiante en los programas de Maestría y Doctorado.

Agradezco al **Dr. Jesús Ancer Rodríguez** Director de la Facultad de Medicina y el Hospital José E. González por el apoyo que me brindó como estudiante de postgrado y como maestro de Histología.

Agradezco especialmente al **Dr. Norberto López Serna** su paciencia, tiempo y dedicación para guiarme certeramente en la elaboración de este trabajo y particularmente por el profesionalismo con el que revisó mi manuscrito.

Agradezco sinceramente al **Dr. Julio Sepúlveda Saavedra** por su tiempo, paciencia y apoyo tanto para mi formación académica, como para la realización de esta tesis y le agradezco profundamente el haberme invitado a participar como maestro de histología de pregrado y postgrado, ya que la docencia fue y será una de las experiencias más gratas de mi vida.

Agradezco a la **Dra. Martha Guerrero de Viader**, por su apoyo, amistad y las importantes enseñanzas sobre el surfactante así como sus valiosos comentarios durante el desarrollo de esta tesis.

Agradezco al **Dr. José María Viader Salvadó** por sus certeras sugerencias, su

amistad y por la colaboración profesional durante el desarrollo de esta tesis.
Agradezco al **Dr. Juan Manuel Solís Soto** por amistad y por sus acertadas observaciones en el desarrollo de este trabajo.

Agradezco al **Dr. Carlos E. de la Garza** Jefe del Departamento de Embriología, por permitirme la utilización de su laboratorio para el desarrollo de una parte del trabajo.

Agradezco al **Dr. Alfredo Piñeyro López** Jefe del Departamento de Farmacología por autorización para la realización de algunas pruebas analíticas.

Agradezco a mis maestros por sus invaluable enseñanzas especialmente a la **Dra. Guadalupe Arredondo de Arreola** por su visión para iniciar este proyecto.

Agradezco a todos los alumnos por proporcionarme la experiencia de entender que nunca terminamos de aprender ya que sus inquietudes generaron en mí, la necesidad de continuar aprendiendo.

Agradezco al **Dr. Jorge Mascareñas** por su valiosa ayuda para encontrar de nuevo el camino a la tranquilidad.

Agradezco a la **Dra. Rosa María Medina Hernández** por su afecto, gran amistad y por todos sus sinceros comentarios.

Agradezco a mis compañeras entrañables: **Dra. Ma. Eugenia Navarro Espinoza**, **Dra. Eva Tamez Treviño**, **Dra. Raquel Gpe. Ballesteros Elizondo** y **Dra. Leticia María Moreno Martínez** por sus palabras de aliento y cariño continuo.

Agradezco a mis amigas **MVZ Ruth Alvarez**, **QCB Griselda Laredo**, **QCB Guadalupe Esparza**, **QCB Vladimira Torres** por su gran apoyo y todas las atenciones que recibí de cada una de ellas, especialmente de **QCB Evangelina Alvarez** por su compañía, calidez y fina colaboración en este trabajo.

Agradezco a los amigos de ayer hoy y siempre **Est. med. Mario Valdéz**, **Biol. M.C Patricia Penilla**, **Biol. M.C Ricardo Acosta**, **QBP José Ruiz Ordoñez**, por los momentos que vivimos, ya que a pesar de no coincidir en tiempo ni lugar actualmente, las experiencias compartidas son tesoros inolvidables.

Agradezco a todo el personal del Departamento de Embriología por el apoyo y comprensión para el desarrollo de este trabajo.

Agradezco a todo el personal del Departamento de Histología que de una forma u otra colaboraron siempre tan amablemente en la realización de esta tesis.

Sinceramente a todos muchas gracias.

María Guadalupe Moreno Treviño.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCION	1
1.1 Generalidades	1
1.2 Metabolismo	1
1.3 Exposición durante la gestación	3
1.4 Morfología del pulmón	7
1.5 Modelos experimentales de los efectos del alcohol en pulmón	9
1.6 Efectos del alcohol en el pulmón humano	11
1.7 Hipótesis y Objetivos	12
1.7.1 Hipótesis del trabajo	12
1.7.2 Objetivos específicos	12
2. MATERIALES Y METODOS.	14
2.1 Material Biológico	14
2.2 Equipo	14
2.3 Reactivos	15
2.4 Métodos.	17
2.4.1 Grupos experimentales.	17
2.4.2 Características de las dietas	18
2.4.3 Método de sacrificio de las ratas.	18
2.4.4 Obtención de sangre para determinación de alcohol	20
2.4.5. Análisis estadístico de mediciones corporales	20
2.4.6 Microscopía de cortes por congelación.	20
2.4.7 Inclusión en resinas epóxicas para microscopía de luz.	21
2.4.8 Análisis Morfométrico	21
2.4.9 Microscopía Electrónica	22
2.4.10 Análisis Ultraestructural	23
3. RESULTADOS.	24
3.1 Distribución de los grupos de trabajo	24
3.2 Niveles de alcohol en sangre	25
3.3 Mediciones	26
3.3.1 Promedio de Peso Total	26
3.3.2 Promedio de la Longitud Craneocaudal	27

3.3.3	Promedio del Peso Húmedo del Pulmón	27
3.4	Análisis morfológico a microscopía de luz	29
3.4.1	Cortes Teñidos con Hematoxilina y Eosina	29
3.4.2	Histoquímica no enzimática técnica de PAS	29
3.4.3	Histoquímica no enzimática técnica de Rojo Oleoso	29
3.5	Análisis de Histología del pulmón	33
3.5.1	Neumocito I	35
3.5.2	Neumocito II	36
3.5.3	Células claras de los alvéolos.	36
3.5.4	Células Intersticiales.	39
3.6	Tubos Epiteliales	39
3.7	Análisis Morfométrico	42
3.7.1	Análisis morfométrico de la zona central del pulmón en los grupos control y control isocalórico y dieta líquida de alcohol al 5%.	42
3.7.2	Análisis morfométrico de la zona periférica del pulmón en los grupos control y control isocalórico y dieta líquida de alcohol al 5%.	44
3.8	Análisis morfométrico de los tubos epiteliales.	46
3.8.1	Análisis morfométrico en la zona central del pulmón	46
3.8.2	Análisis morfométrico en la zona periférica del pulmón de los grupos control, control isocalórico y grupo tratado con alcohol 5%	46
3.9	Análisis Ultraestructural	49
3.9.1	Neumocito II.	49
3.9.1.1	Organelos de los neumocitos II	50
3.9.1.1.1	Cuerpos Lamelares	53
3.9.1.1.2	Aparato de golgi.	53
3.9.1.1.3	Reticulo endoplásmico rugoso	53
3.9.1.1.4	Mitocondrias.	57
3.9.2	Células claras de los alvéolos	59
3.9.3	Células intersticiales	61
3.9.4	Tubos epiteliales	61
4.	DISCUSION.	64
5.	CONCLUSIONES, PERSPECTIVAS Y CONTRIBUCIONES	76
5.1	Conclusiones.	76
5.2	Perspectivas	77
5.3	Contribuciones	78
	BIBLIOGRAFIA	79

APENDICES	89
APENDICE A	89
TABLAS	
Tabla de peso.	89
Tabla de longitud craneocaudal.	89
Tabla de perfiles en la zona central del pulmón.	89
Tabla de perfiles en la zona periférica del pulmón.	90
Tabla de perfiles de tubos revstidos de epitelio.	90
APENDICE B	91
Preparación del material biológico	91
Procedimiento para la preparación de las dietas.	92
Administración de las dietas	92
Procedimiento de tomas de muestras	92
Método de sacrificio.	93
Lista de materiales para el estudio histológico, histoquímico, morfométrico y ultraestructural	93
APENDICE C	96
Técnica de hematoxilina y eosina.	96
Técnica de ac. peryódico de Schiff PAS	97
Técnica de rojo oleoso	98
Técnica de inclusión en resinas epóxicas.	99
Ultramicrotoma de cortes semifinos.	100
Técnica de azul de toluidina.	100
APENDICE D.	102
Apéndice estadístico	102
Análisis del peso total, longitud craneocaudal y peso húmedo del pulmón	102
Análisis morfométrico de los perfiles de las células contenidas en la zona central del pulmón.	103
Análisis morfométrico de los perfiles de células contenidas en la zona periférica del pulmón	104
APENDICE E	105
Participación de este trabajo en congresos.	105

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

DSM-III	Manual Diagnóstico Estadístico Enfermedades Mentales
DSM-IV	Manual Diagnóstico Estadístico Enfermedades Mentales
ADH	Alcohol Deshidrogenasa
MEOS	Sistema Oxidativo Microsomal para el Etanol
SAF	Síndrome de Alcohol Fetal
EFA	Exposición Fetal al Alcohol
NI	Neumocito I
NII	Neumocito II
E	Célula endotelial
CI	Célula intersticial
ER	Eritrocito
CCA	Células Claras de los Alvéolos
CL	Cuerpos Lamelares
TM	Tubos de mielina
N	Núcleo
M	Mitocondria
G	Aparato de golgi
RER	Retículo endoplásmico rugoso
°C	Grados centígrados
%	Porcentaje
LD'	Dieta líquida
MET	Microscopio Electrónico de Transmisión
v/v	Volumen por volumen
µm	Micras
nm	Nanómetros
p>	Significancia estadística
mg/dl	Miligramos por decilitro

MED	Media
C	Control absoluto
DM	Dextrin maltosa
CI	Control isocalórico
OH	Alcohol
mm	Milímetro
r/n	Recién nacidos
n=	Números de individuos muestrales
x	Aumentos
A	Alvéolos
T	Tabiques alveolares
G	Espacios donde se localizaba el glucógeno
DS	Desviación estándar

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
I. Grupos experimentales	17
II. Distribución de los grupos de trabajo	25
III. Valores del nivel de alcohol en sangre	25
IV. Valores promedio de peso húmedo de pulmón	28

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Vías metabólicas del alcohol	3
2. Microscopía electrónica de transmisión del tabique alveolar.	8
3. Microscopía electrónica de transmisión del neumocito II.	9
4. Estrategia experimental.	19
5. <i>Análisis morfométrico</i>	22
6. Gráfica del promedio de peso total.	26
7. Gráfica del promedio de la longitud craneocaudal.	27
8. Gráfica del promedio del peso húmedo del pulmón.	28
9. Microscopía de luz cortes de congelación.	30
10. Microscopía de luz técnica de PAS.	31
11. Microscopía de luz técnica de rojo oleoso	32
12. Histología del pulmón en cortes semifinos 12.5x.	33
13. Histología del pulmón en cortes semifinos 25.6x.	34
14. Cortes semifinos neumocitos I	35
15. Cortes semifinos neumocitos II	37
16. Cortes semifinos de células claras de los alvéolos.	38
17. Cortes semifinos células intersticiales	40
18. Cortes semifinos de tubos epiteliales.	41
19. Gráfica de los perfiles de la zona central del pulmón	43

Figura	Página
20. Gráfica de los perfiles de la zona periférica del pulmón.	45
21. Gráfica de los perfiles de los tubos epiteliales	47
22. Gráfica general de ambas zonas del pulmón.	48
23. Micrografía electrónica de transmisión del los neumocitos II .	49
24. Micrografía electrónica del citoplasma de los neumocitos II .	51
25. Ultraestructura del citoplasma de los neumocitos II	52
26. Ultraestructura de los cuerpos lamelares.	54
27. Ultraestructura del aparato de golgi de los neumocitos II. . . .	55
28. Ultraestructura del rer de los neumocitos II	56
29. Ultraestructura de las mitocondrias de los neumocitos II	58
30. Ultraestructura de las células claras de los alvéolos	60
31. Ultraestructura de las células intersticiales	62
32. Ultraestructura de los de tubos epiteliales	63

RESUMEN

María Guadalupe Moreno Treviño

Fecha de Graduación: Junio 2002

**Universidad Autónoma de
Nuevo León Facultad de Medicina**

Título del Estudio:

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION
TRANSPLACENTARIA DE ALCOHOL
EN EL DESARROLLO DEL PULMON
DE RATA**

Número de páginas: 105

**Candidato para el grado de Doctor en
Ciencias con especialidad en Morfología**

Area de Estudio: Morfología

Propósito y Método del Estudio: El abuso del alcohol durante la gestación ocasiona graves problemas en la morfogénesis y el desarrollo de los productos; en particular en el pulmón, hay hipoplasia, con desarrollo alveolar disminuido.

Se utilizaron ratas hembras adultas preñadas de la cepa Sprague Dawley que recibieron una dieta líquida de alcohol al 5%, dieta control isocalórico y control. Se realizaron cortes por congelación de pulmón que se tiñeron con las técnicas de PAS y Rojo Oleoso. Otros fragmentos, se procesaron para cortes semifinos para su análisis histológico y morfométrico, y finos para estudios de ultraestructura. **El propósito de este trabajo es caracterizar los cambios morfológicos del pulmón ocasionados por la ingesta alcohol transplacentario, utilizando técnicas histoquímicas, histológicas, morfométricas y ultraestructurales.**

Conclusiones y Contribuciones: Con la metodología planteada fue posible caracterizar los cambios celulares en el pulmón por efecto del alcohol. Una de las contribuciones fue evidenciar la presencia de abundantes lípidos en las células intersticiales (CI) que indican claramente **el retardo en la citodiferenciación de los lipofibroblastos a fibroblastos por efecto del alcohol.** Es importante señalar que estas células no han sido reportadas en el pulmón de ratas recién nacidas intoxicadas transplacentariamente con alcohol al 5%. Otro hallazgo fue la presencia de células inmaduras, con abundantes depósitos de glucógeno que denominamos células claras de los alvéolos (CCA), futuros neumocitos II, **lo que indica el retardo en la maduración de los neumocitos II ocasionados por el alcohol.** En los resultados morfométricos, fue posible cuantificar la disminución del número de neumocitos II y el aumento de las CCA o inmaduras ocasionados por ingesta de alcohol. En el análisis ultraestructural de las CI y las CCA presentan características de inmadurez. Por lo que podemos concluir que la administración transplacentaria de alcohol al 5% altera la citodiferenciación de las CI y retarda la maduración de los neumocitos II.

FIRMA DEL DIRECTOR

M.C.P. Dr. Med Norberto López Serna