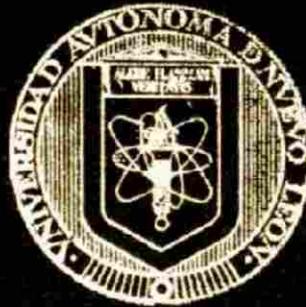


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA



**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

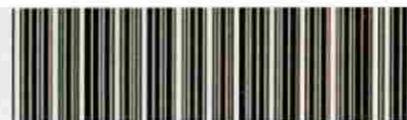
Junio 2002



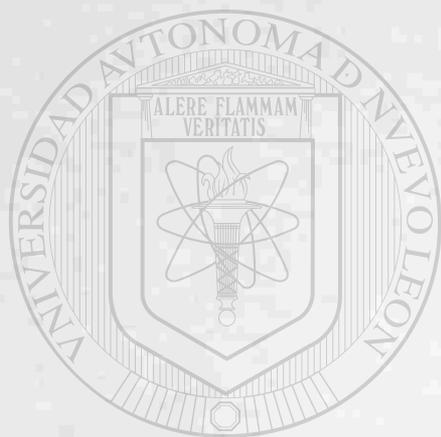
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN®
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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

TD
RC756
.M6
2002
c.1



1080114181



UANL

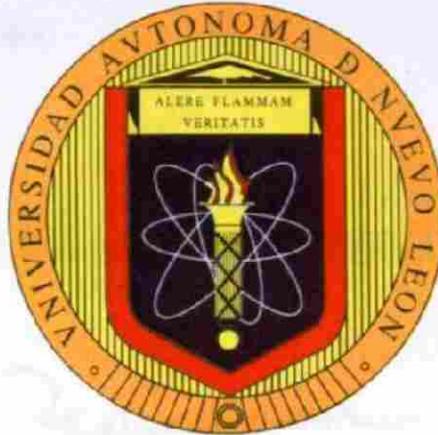
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



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

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Por

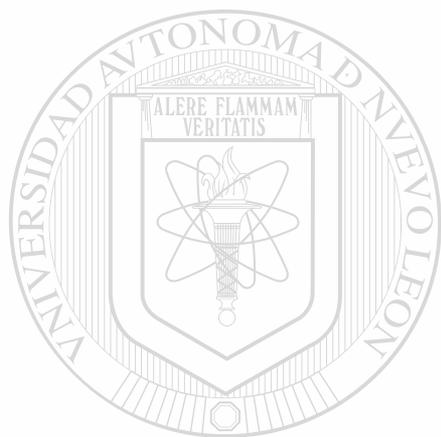
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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
· M6
2002



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**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



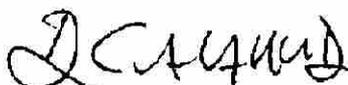
DR. JUAN MANUEL SOLIS SOTO
Comisión de Tesis



DRA. MARTHA GUERRERO DE VIADER
Comisión de Tesis



DR. JOSE MARIA VIADER SALVADO
Comisión de Tesis

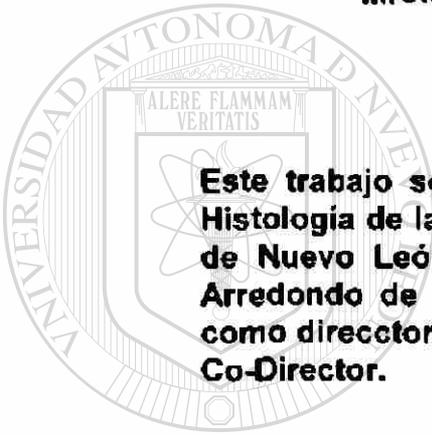


DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO
Subdirector
de Investigación y Estudios de Posgrado

**“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.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FIRMAS [®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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.

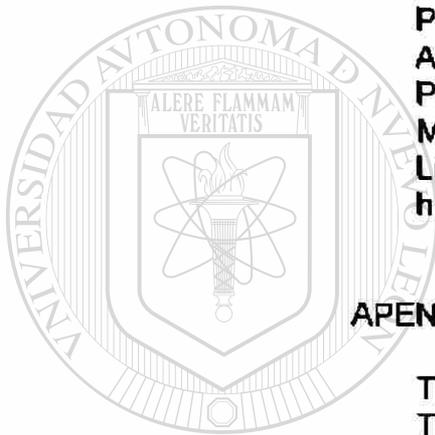
María Guadalupe Moreno Treviño.

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
Ultramicrotomía 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

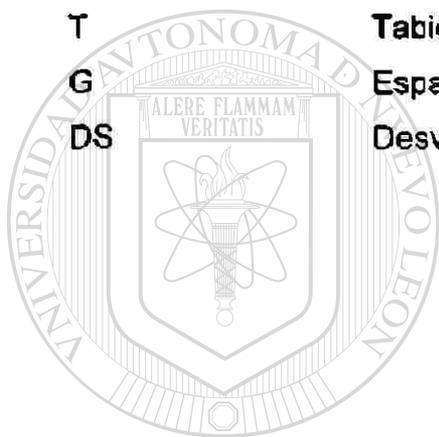


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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	Reticulo 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



UANL

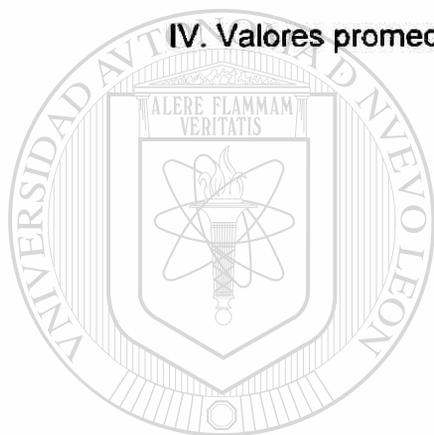
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

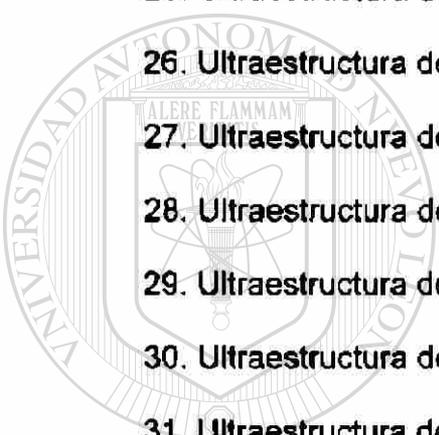
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



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. Análisis morfométrico	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
<hr/>	
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



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



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 Hojo 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.

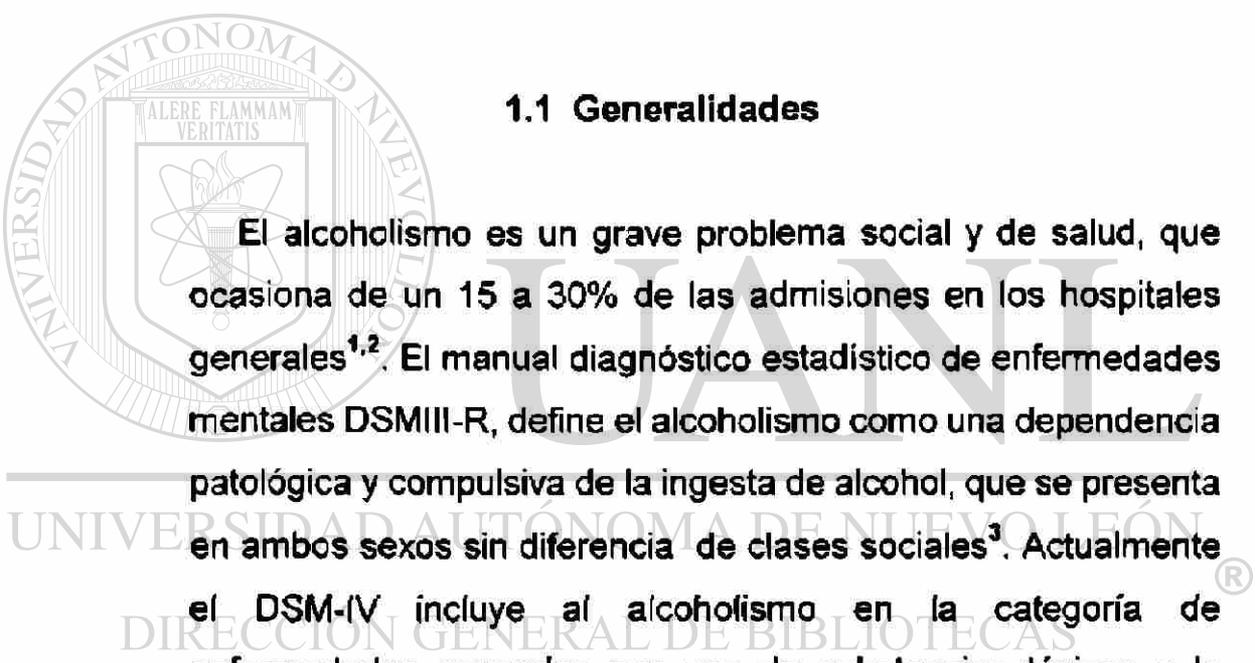
FIRMA DEL DIRECTOR

M.C.P. Dr. Med Norberto López Serna

CAPITULO UNO

INTRODUCCION

1.1 Generalidades



El alcoholismo es un grave problema social y de salud, que ocasiona de un 15 a 30% de las admisiones en los hospitales generales^{1,2}. El manual diagnóstico estadístico de enfermedades mentales DSMIII-R, define el alcoholismo como una dependencia patológica y compulsiva de la ingesta de alcohol, que se presenta en ambos sexos sin diferencia de clases sociales³. Actualmente el DSM-IV incluye al alcoholismo en la categoría de enfermedades causadas por uso de sustancias tóxicas y lo clasifica como un síndrome complejo que debe presentar cuando menos dos síntomas específicos dentro de un período de tiempo de un año para su correcto diagnóstico⁴.

1.2 Metabolismo del alcohol

El alcohol se absorbe en la mucosa del estómago, intestino y colon, su concentración en los tejidos es proporcional al

CAPITULO DOS

MATERIAL Y METODOS.

2.1 Material Biológico

Ratas hembras cepa *Sprague-Dawley*, adultas jóvenes (aproximadamente dos meses de edad) (Charles River Breeding Laboratories) del bioterio del Departamento de Embriología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

2.2 Equipo

Balanza granataria.

Balanza analítica.

Crióstato.

Microscopio Esteroscópico American Optical modelo 569.

Ultramicrotomo LKB BROMA ULTRATOME[®] modelo 2088.

Preparador de cuchillas de vidrio LKB modelo 7800 Knife Maker

Fotomicroscopio Carl-Zeiss modelo I.

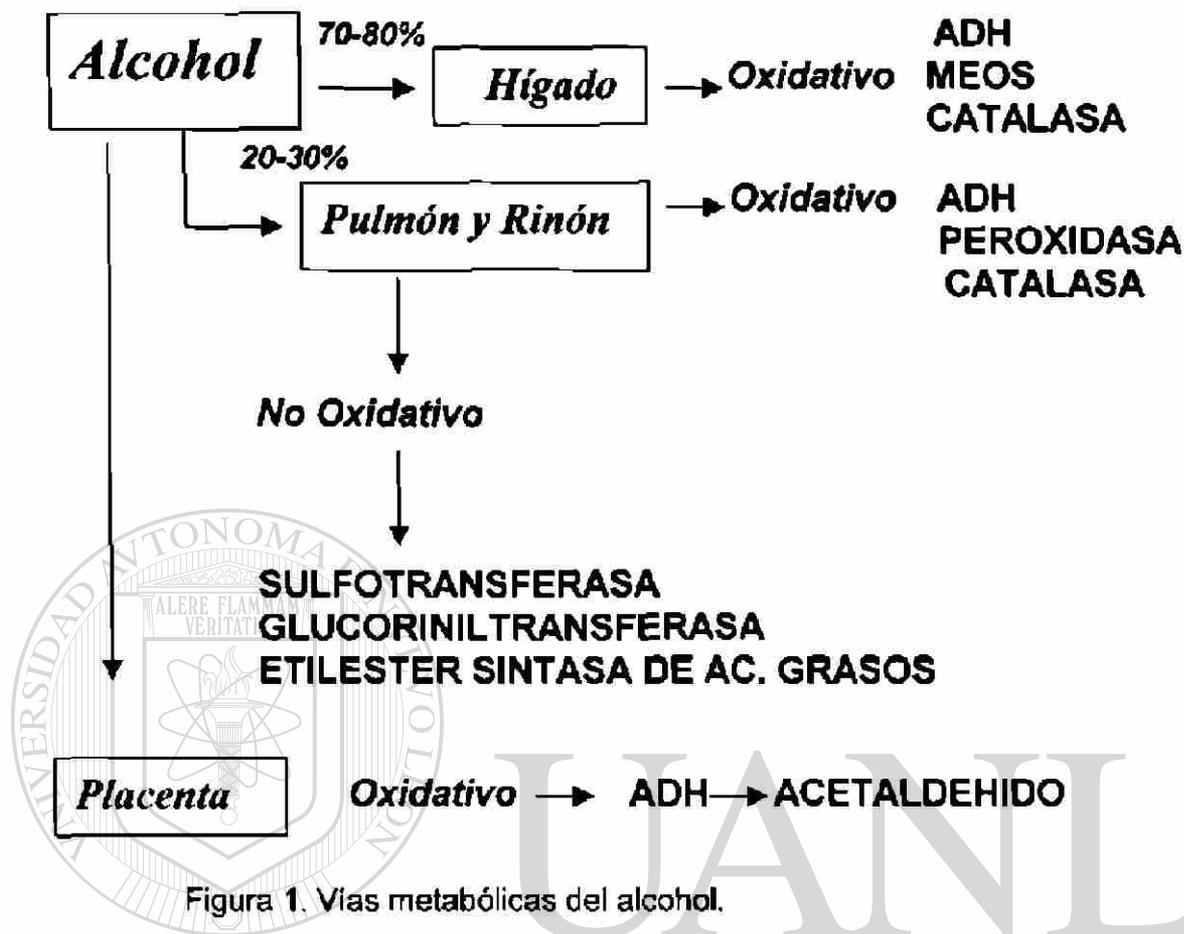
Microscopio Electrónico de Transmisión, modelo Carl-Zeiss

EM 109 con aceleración de voltaje de 80 kV.

contenido de agua; el 70-80% del metabolismo es realizado en el hígado. El metabolismo hepático del alcohol es primordialmente de tipo oxidativo; en una primera fase es convertido a acetaldehído y ácido acético, posteriormente a CO_2 y agua. Este proceso es efectuado por acción de tres diferentes sistemas enzimáticos: el sistema de la alcohol deshidrogenasa (ADH), el sistema oxidativo microsomal para el etanol (MEOS) y el sistema de la catalasa^{5,6,7,8}.

El otro 20 al 30% del metabolismo del alcohol ocurre en órganos como el pulmón y el riñón, por rutas oxidativas y no oxidativas. En la vía oxidativa intervienen la ADH, así como la catalasa, peroxidasa y otras oxidasas de función mixta⁹. Las vías no oxidativas incluyen las enzimas de la sulfotransferasa y glucoriniltransferasa. Durante la gestación, el alcohol es metabolizado en la placenta por vías oxidativas, principalmente por el sistema de la ADH.

Como parte de las rutas metabólicas no oxidativas que ocurren en el pulmón en algunas especies de mamíferos inferiores como el conejo y la rata, se ha descrito la participación de la enzima etilester sintasa de ácidos grasos; esta enzima genera ácidos grasos de etilo: el oleato de etilo, el palmitato de etilo y el estearato de etilo, como productos finales derivados de su metabolismo, estos derivados podrían alterar la composición de los lípidos en las membranas^{10,11} (Fig.1).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 1.3 Exposición durante la gestación
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El abuso del alcohol durante la gestación, ocasiona un patrón de alteraciones en la morfogénesis y el crecimiento de los productos¹². Existen reportes de los daños que genera: en el tubo neural se presentan diversas manifestaciones como anencefalia, microcefalia, hidrocefalia, retraso mental y mielomeningocele¹³.

En otros sistemas produce depresión del sistema inmune^{14,15,16} y grados variables de alteraciones en órganos como riñón, corazón y pulmón¹⁷.

Más de dos mil reportes científicos confirman que el alcohol es el teratógeno conocido que más alteraciones causa en el sistema nervioso central. Estas alteraciones pueden ser ocasionadas directamente por el alcohol o por sus productos metabólicos como el acetaldehído en diferentes tejidos y órganos durante el desarrollo^{18,19,20,21}.

Hasta la década de los setenta se prestó seria atención a la relación entre la exposición prenatal al alcohol y los defectos que se presentaban en los recién nacidos y en el período postnatal.

En 1973, Jones describió por primera vez el Síndrome Alcohol Fetal (SAF)²², en el cual los niños presentaban al nacimiento una serie de defectos físicos y mentales cuando las madres habían ingerido alcohol durante la gestación. En este síndrome se incluyen anomalías observadas prenatales y postnatales: anomalías del Sistema Nervioso Central (microcefalia y alteraciones en el comportamiento como retardo mental con disminución del coeficiente intelectual); Disfunciones craneofaciales (micrognatia), alteraciones en el crecimiento en peso, talla y músculo-esqueléticas.

De acuerdo a datos estadísticos, se considera que si durante el periodo de la gestación se ingiere alcohol, los productos podrían presentar en el 6% de los casos SAF. En el humano la cantidad crítica de consumo del alcohol diario para producir SAF, es aproximadamente de 3 oz o 100 ml de alcohol absoluto al día.

Es muy importante puntualizar que para que las manifestaciones floridas del síndrome se presenten, la ingestión del alcohol debe ocurrir durante el *período crítico de la gestación, que abarca desde la fase de gástrula hasta la organogénesis*. En el humano esto puede ocurrir alrededor de la segunda o tercera semana de vida intrauterina. Esta cantidad de alcohol podría ser aportada con 3 a 5 bebidas diarias en el caso del whisky. Pero la cantidad de bebidas diarias podría variar y ser mayor de acuerdo al porcentaje o grados de alcohol que contengan²³.

Se ha descrito una entidad similar al SAF denominada Exposición Fetal al Alcohol (EFA). En los casos en que la ingestión del alcohol no ocurrió en el periodo crítico, sino en cualquier otro momento durante la gestación. En la EFA no se presentan las *anomalías craneofaciales que caracterizan al SAF*, pero si van a prevalecer las alteraciones del SNC, manifestándose con grados variables de daño, desde la disminución moderada de la capacidad intelectual hasta el deterioro intelectual severo o retardo mental²⁴.

En Estados Unidos de Norte América uno de cada 750 nacidos vivos presentó el SAF, por lo que hay

aproximadamente de 4,000 a 5,000 niños afectados con este síndrome cada año. Se calcula que los niños que presentan alteraciones causadas por EFA son cerca de 50,000 al año. Los investigadores en educación especial consideran que del 20 a 30% de los niños que requieren tratamiento de apoyo, estuvieron expuestos a diversas dosis de alcohol en algún momento de su desarrollo intrauterino²⁵.

El empleo de modelos animales para conocer los efectos fetales del alcohol, fue motivado por la serie de consideraciones éticas de la experimentación en humanos y en particular por las complejas interacciones asociadas con alcoholismo crónico.

Abel en 1980²⁶ realizó una exhaustiva revisión en la literatura de estos modelos, para evidenciar los efectos del alcohol, y resaltó que la rata y el ratón fueron los más utilizados. Describió que posiblemente algunas de las manifestaciones fueron ocasionadas por las deficiencias nutricionales asociadas a la ingesta de alcohol. Por este motivo puntualiza que el reproducir los efectos del alcohol durante la gestación involucra serios problemas metodológicos y que para lograr inducir daño en los tejidos se debe utilizar dietas líquidas con dosis mayores a 6 y 7% de alcohol. Esta dosificación asegura que la concentración sanguínea del alcohol será de aproximadamente 150 a 350 mg/dl; suficiente para producir daño a los tejidos.

En 1981, Sulik, Johnston y Webb fueron los primeros en producir en un modelo animal el síndrome de alcohol fetal en

ratones cepa C57BL/6J, con la aplicación de dos dosis de alcohol al 25% intraperitonealmente durante el período crítico de la gestación (desde la fase de gástrula hasta la organogénesis) con lo que obtuvieron cambios craneofaciales equiparables a las modificaciones que presentan los niños con el SAF²⁷.

En el humano, un nivel equivalente de alcohol en sangre para producir el síndrome puede ocurrir utilizando 3 oz ó 100 ml de whisky, con un rango de 3 a 5 bebidas al día para una mujer de 60 kg o hasta 10 bebidas de acuerdo al porcentaje de alcohol que contenga.

1.4 Morfología del pulmón

Con relación a las características morfológicas e histológicas del pulmón, se han descrito más de 42 tipos celulares diferentes; pero las células de la región alveolar del pulmón son: los neumocitos I, neumocito II, neumocito III o células en cepillo en la rata adulta, la célula intersticial, macrófago alveolar y célula endotelial,^{28,29,30,31} (Fig. 2).

La cavidad alveolar está revestida por un epitelio plano simple de neumocitos I, que son las células encargadas de formar parte de la barrera sangre-aire³². Su citoplasma cubre la mayor parte de la superficie alveolar. Los neumocitos II, son células redondeadas con abundantes organelos como mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso, aparato de Golgi y los cuerpos lamelares (figura 3) que contienen fosfolípidos almacenados y

proteínas que contribuyen a formar parte del sistema del surfactante. La función del neumocito II es sintetizar, almacenar y secretar parte del surfactante pulmonar para evitar el colapso de la cavidad alveolar en el momento de la espiración^{33,34,35}.

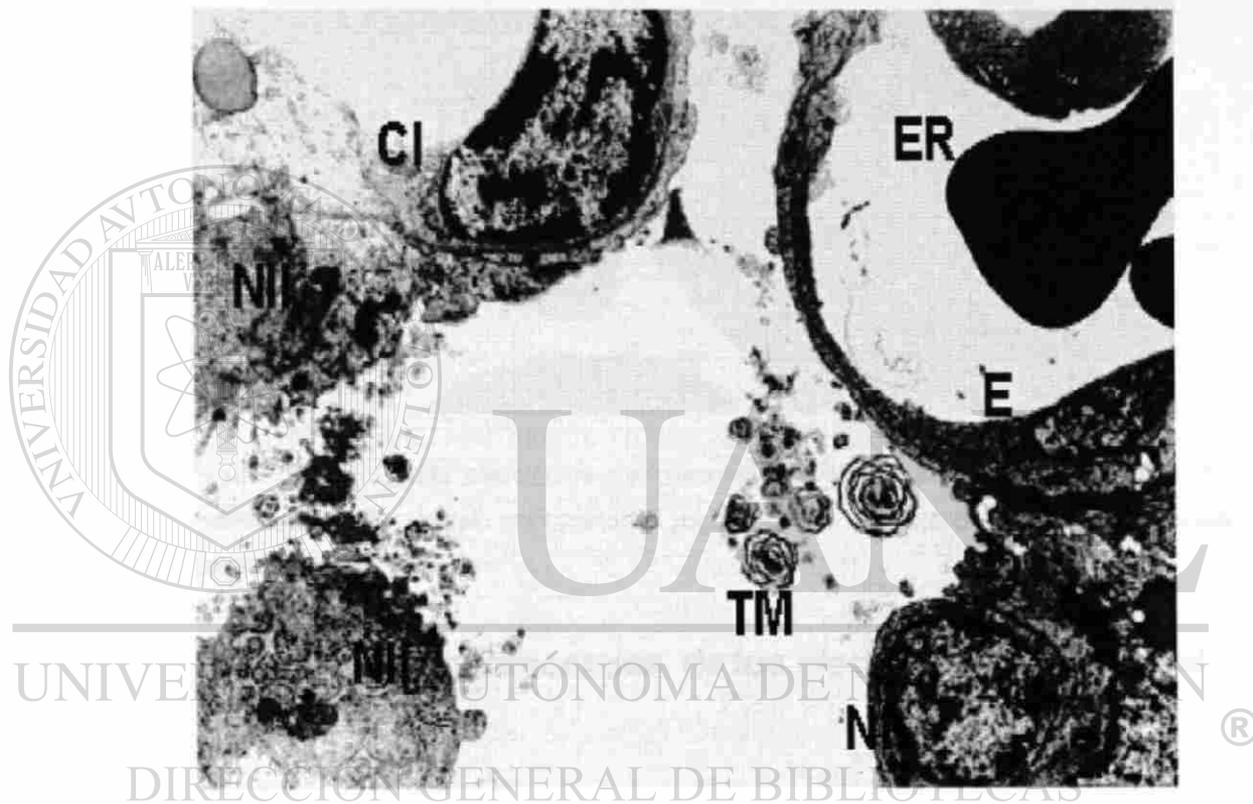


Figura 2. Micrografía electrónica de transmisión de un tabique alveolar. neumocitos I (NI), neumocito II (NII), célula intersticial (CI), célula endotelial (E), eritrocito (ER) y tubos de mielina (TM) en la luz del alvéolo 3,000x.

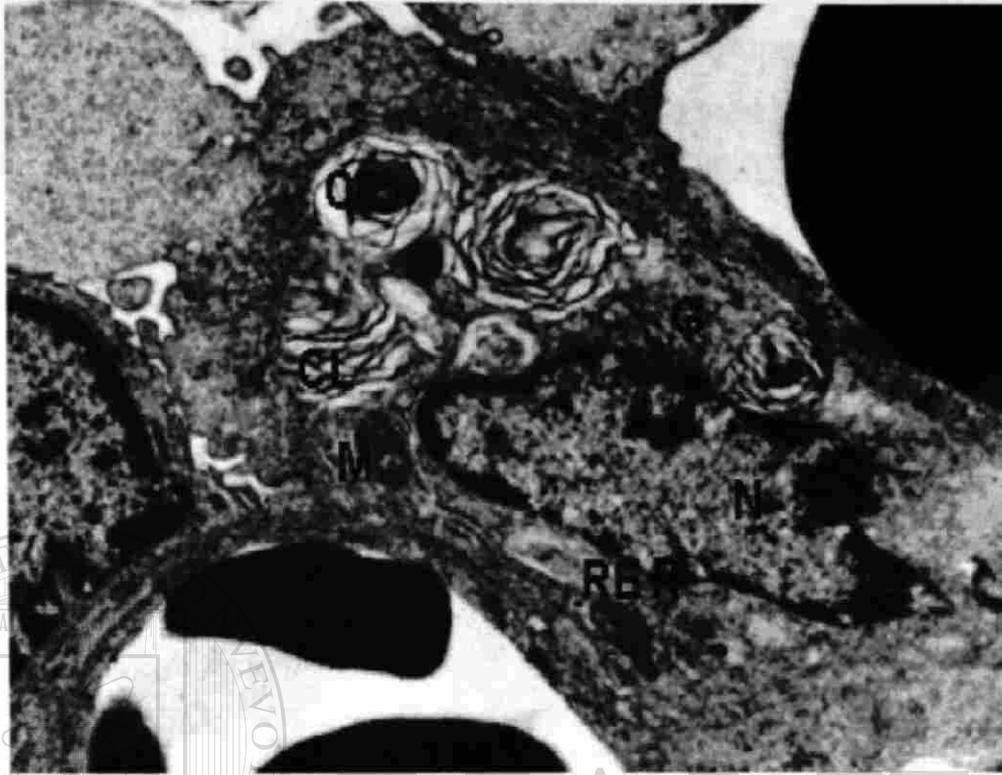


Figura 3. Micrografía electrónica de transmisión del neumocito II (NII), núcleo (N) mitocondrias (M), retículo endoplásmico rugoso (RER), aparato de Golgi (G) y cuerpos lamelares (CL). 7,000x.

1.5 Modelos experimentales de los efectos del alcohol en el pulmón

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

En 1980, Rasmussen y col. demostraron el efecto teratogénico del alcohol en ratones recién nacidos cuyas madres recibieron dieta líquida con 10-20% de alcohol durante toda la gestación. En el análisis morfológico el pulmón de los recién nacidos presentaba datos de hipoplasia, y con el microscopio estereoscópico observó bronquios con la mucosa plegada y escasas estructuras similares a alvéolos revestidas de epitelio³⁶.

En 1985, Inselman y col. intoxicaron un grupo de ratones con una dieta líquida de alcohol al 6% durante toda la gestación (una de las dosis mas baja utilizada en los reportes). En los productos describieron una disminución del tamaño y peso del pulmón asociado con una menor cantidad de proteínas, DNA y RNA ³⁷.

En 1989, Snyder y col. realizaron un estudio donde administraron dieta líquida con alcohol al 10% a un grupo de ratas gestantes y en los productos encontraron disminución del peso corporal total y particularmente disminución del peso pulmonar³⁸.

En 1989, Zagorul'ko intoxicó un grupo de ratas por vía intraperitoneal con una sola dosis de alcohol al 10% durante el período crítico de la gestación y reportó disminución del tamaño de los neumocitos tipo II. En 1990 utilizó una sola dosis de alcohol al 50% de nuevo por vía intraperitoneal y realizó estudios de microscopía electrónica del pulmón, observando que algunas células tipo II se observaron más oscuras que otras, pero el hallazgo de mayor relevancia fue la presencia en la luz de los alvéolos de un material electrodensso liberado por las modificaciones que ocasionó el alcohol en las células alveolares, este material lo consideró de naturaleza protéica^{39,40}.

En 1991, O'Gorman y Bannigan reportaron un grupo de ratones en los que ocasionaron el síndrome de alcohol fetal SAF. Realizaron el estudio del pulmón con microscopía de luz y

encontraron bronquiolos de luz estrecha, mucosa bronquial plegada y un desarrollo sacular disminuido⁴¹.

En 1994, Treviño y col. utilizaron un modelo de intoxicación por vía oral en ratas con dieta líquida de alcohol al 20-30% durante la gestación y reportaron cambios en las proporciones de las células alveolares, por lo que concluyeron que a esta dosis el alcohol ocasiona alteración en la morfogénesis y citodiferenciación del pulmón⁴².

1.6 Efectos del alcohol en el pulmón humano

En 1981 Johnson S. K.⁴³ reportó una serie de estudios clínicos que indicaban que los niños con SAF presentaron aumento en la incidencia de las enfermedades respiratorias. Diversos autores coinciden en que la exposición al alcohol favorece los procesos patológicos del pulmón⁴⁴⁻⁴⁷.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

La justificación del trabajo está basada en que son escasos [®]

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
los reportes en modelos experimentales donde se investigan los efectos del alcohol en la citodiferenciación del pulmón; por lo que es necesario caracterizar morfológicamente los cambios que ocurren con dosis de alcohol menores a las que producen el SAF, ya que estos podrían extrapolarse a lo que sucede en los productos que desarrollan EFA.

1.7 Hipótesis de Trabajo y Objetivos

1.7.1 Hipótesis de Trabajo

La administración transplacentaria de alcohol al 5% causa alteraciones en el pulmón de los productos recién nacidos, que pueden evaluarse por las características histoquímicas, histológicas, morfométricas y ultraestructurales de las células del pulmón.

1.7.2 Objetivos específicos

- 1. Seleccionar un grupo de ratas gestantes y administrarles dietas líquidas con alcohol al 5% hasta el término de la gestación.**
- 2. Contrastar por análisis estadístico los valores de peso total, longitud craneocaudal y peso húmedo del pulmón de ratas recién nacidas, de ambos sexos, que recibieron alcohol transplacentario, con el control isocalórico y el control.**
- 3. Evaluar las reacciones histoquímicas del pulmón de ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario, y comparar con el control isocalórico y el control.**
- 4. Comparar las características histológicas, en cortes semifinos del pulmón en ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario con el control isocalórico y el control.**

5. Caracterizar el grado de maduración pulmonar, por un análisis morfométrico con microscopía de luz, en ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario y comparar con el control isocálorico y el control.

6. Evaluar los cambios ultraestructurales que ocurren en los neumocitos II y fibroblastos de pulmones de ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario, así como en el control isocálorico y el control.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Autoclave Market Forge Sterilmatic modelo SMT-E.

Sistema Milipore desionizador y purificador de agua milli-Q, con cartuchos de intercambio iónico, de carbón y filtros de ésteres de celulosa (poro 0.22 μm) biológicamente inertes.

2.3 Reactivos

Para el desarrollo de esta tesis se utilizaron productos químicos (cloroformo y acetona) grado analítico MERCK[®].

Los reactivos, material de cristalería utilizado para la preparación de las dietas y para la disección fueron preparados bajo estrictas normas de esterilidad. Las dietas⁴⁸ fueron reconstituidas y cambiadas diariamente a las 8:30 a.m. para evitar variaciones; para contabilizar el consumo de las dietas líquidas se utilizaron tubos alimentadores graduados que permitieron registrar el consumo diario de líquido sin probabilidad de pérdida por evaporación, en un reservorio diferente se colocó el agua.

El material y colorantes utilizados para la técnica de cortes por congelación como el entellan, portaobjetos, glicerol gelatina, bálsamo de Canadá, cubreobjetos, hematoxilina de Harris, eosina, rojo oleoso y PAS fueron de la casa Sigma Chemical Company[®].

Los reactivos utilizados para la técnica de microscopía electrónica fueron: glutaraldehído 25%, paraformaldehído, ácido pícrico, tetraóxido de osmio, nitrato de uranilo, cacodilato de sodio, resinas epóxicas, colorante de azul de toluidina, acetato de uranilo, citrato de plomo, y materiales como moldes de inclusión, rejillas de cobre que se obtuvieron de Electron Microscopy Science[®]; la cuchilla de diamante y las barras de vidrio para preparar las cuchillas se obtuvieron de Pelco International[®]. Los rollos de película para el microscopio electrónico de transmisión fueron de la marca Agfa-Geevaert AG. El papel para la impresión de las micrografías en blanco y negro fue de la marca Eastman Kodak Company[®].



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.4 Métodos

2.4.1 Grupos experimentales

Se utilizaron 267 ratas recién nacidas de ambos sexos de la cepa *Sprague-Dawley*.

Se seleccionaron 23 ratas hembras de 250 gr de peso promedio, se verificó la fase de estro por frotis vaginal⁴⁹ y posteriormente se aparearon con la técnica monogámica durante un período corto de 2 h⁵⁰. Se identificó la aparición del tapón vaginal de moco, con lo que se determinó el día "0" de la gestación⁵¹, se aislaron en jaulas individuales para iniciar el tratamiento respectivo, manteniendo la temperatura controlada ente 22 y 24°C; con ciclos de luz oscuridad de 12 h; respectivamente. Se dividieron en 3 grupos que recibieron las siguientes dietas durante toda la gestación (Tabla I).

TABLA I

Dieta	Grupos experimentales Ratas gestantes	Ratas recién nacidas
Líquida con alcohol alta en proteínas para la gestación, LD'82 con alcohol al 5%. ^a	9	115
Líquida con dextrin maltosa alta en proteínas para la gestación, LD'82 ^b	6	76
Croquetas de purina Ratchow.	8	76

^a El alcohol aportó 36% de las calorías.

^b La dextrin maltosa aportó 36% de calorías control isocalórico.

En los tres grupos gestaron en promedio de 10 a 14 productos por camada.

2.4.2 Características de las dietas

Las dietas fueron balanceadas en su aporte calórico y suplementadas con vitaminas y minerales, dietas producidas y distribuidas comercialmente por Bio-Serv[®], seleccionadas de los trabajos de Lieber y Decarli⁵². La dieta líquida alta en proteínas contiene el 100% de las calorías, con una composición de:

Proteínas	25%
Grasas	12%
Carbohidratos	63%

2.4.3 Método de sacrificio de las ratas

Al término de la gestación, a los 21 días aproximadamente, nacieron los productos por parto normal. Inmediatamente después se realizó su identificación, con el registro del número de la rata madre y secuencia de nacimiento en la camada, sexo, peso total y longitud craneocaudal. Ya identificadas, fueron anestesiadas con éter etílico⁵³ y mediante una incisión toracoabdominal, se obtuvieron los bloques cardiopulmonares, se separaron los pulmones del corazón, y se registró el peso húmedo de los pulmones.

La figura 4 muestra un diagrama que representa la estrategia experimental de este trabajo.

ESTRATEGIA GENERAL

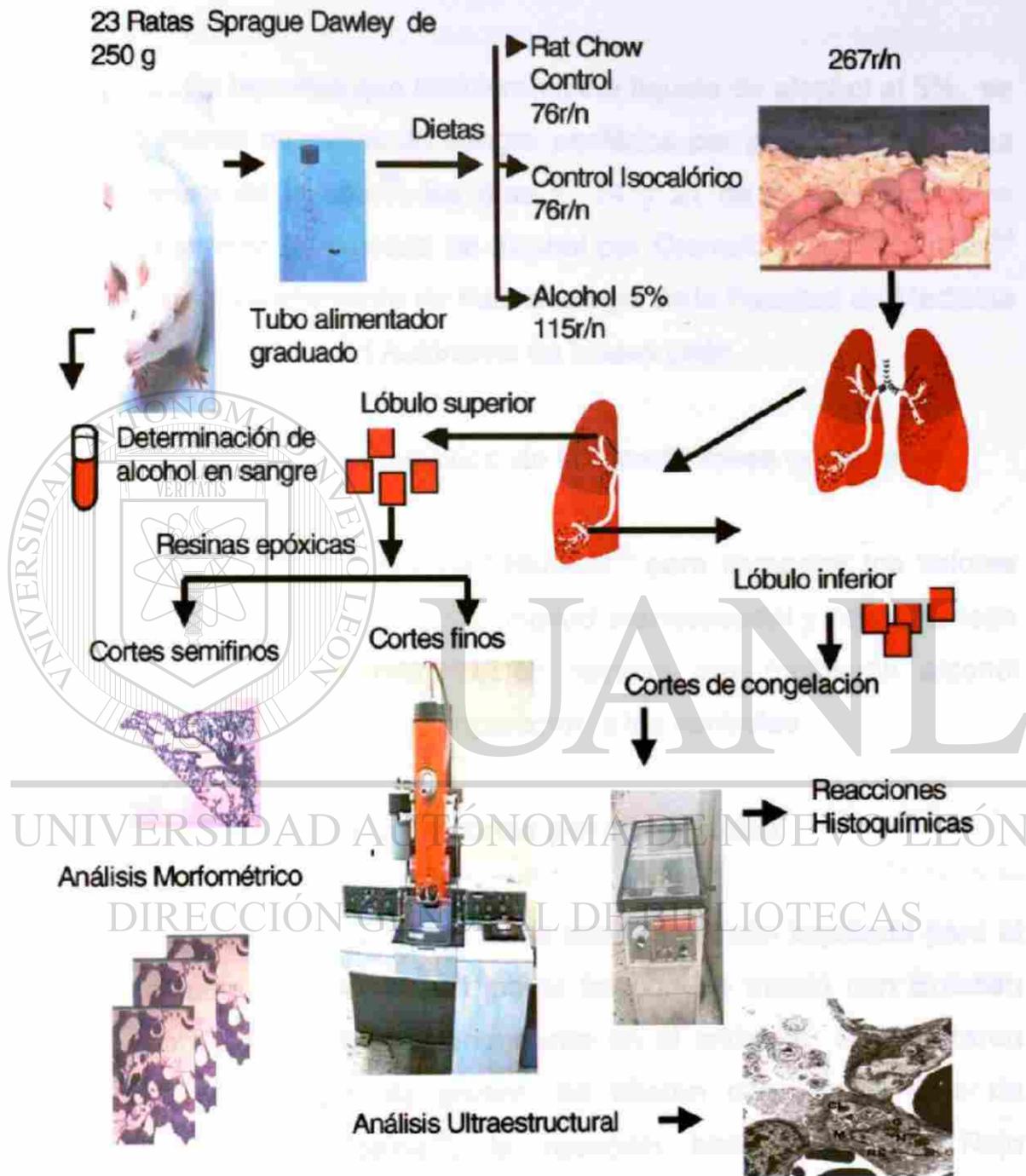


Figura 4. Resumen de la secuencia en la estrategia experimental.

2.4.4 Obtención de sangre para determinar el nivel de alcohol

En las ratas que recibieron dieta líquida de alcohol al 5%, se tomaron muestras de sangre periférica por punción de la vena dorsal de la cola⁵³, los días 7, 14 y 21 de la gestación y se determinó la cantidad de alcohol por Cromatografía de Gases⁵⁴ en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

2.4.5 Análisis estadístico de las mediciones corporales

Se realizó la prueba t-Student⁵⁵ para comparar los valores promedio del peso total, longitud craneocaudal y peso húmedo de pulmón de ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario en comparación a los controles.

2.4.6 Microscopía de cortes por congelación

Posterior a la disección se tomó el pulmón izquierdo para el estudio morfológico. El lóbulo inferior, se montó con Entellan para congelarlo, posteriormente en el crióstato se realizaron cortes de 5 μ m de grosor. Se tiñeron con las técnicas de Hematoxilina-Eosina⁵⁶, la reacción histoquímica de Rojo Oleoso⁵⁷, para la demostración de lípidos y la reacción del ácido peryódico de Schiff⁵⁸ (PAS) para la demostración de glucógeno; se obtuvieron los registros fotográficos de todas las tinciones con Fotomicroscopio Zeiss.

2.4.7 Inclusión en resinas epóxicas para microscopía de luz

Del pulmón izquierdo los fragmentos del lóbulo superior se fijaron en solución de Karnovsky-Ito⁵⁹, posteriormente se lavaron y se llevó a cabo la postfijación con tetraóxido de osmio acuoso al 2%. Se hizo una tinción en bloque con nitrato de uranilo al 1% y posteriormente una deshidratación gradual con diferentes concentraciones de acetona hasta la inclusión en resinas epóxicas⁶⁰. Se obtuvieron en el ultramicrotomo cortes semifinos y se colorearon con la técnica de azul de toluidina⁶¹, se observaron a microscopía de luz y se obtuvo un registro fotográfico.

2.4.8 Análisis Morfométrico

Para evaluar morfológicamente la maduración del pulmón en cortes semifinos incluidos en resinas y teñidos con azul de toluidina se observaron en un microscopio Carl Zeiss a 1,250 aumentos, se contaron el número de perfiles celulares correspondientes a las células claras de los alvéolos (CCA), células intersticiales (CI) y neumocitos II (NII) contenidos en 100 alvéolos (Fig. 5). Se contabilizaron los perfiles de las células en la zona central y periférica del lobulillo pulmonar para cada condición experimental. Además se registraron la cantidad de perfiles de los tubos epiteliales en las mismas áreas. En el análisis morfométrico cada valor presentado en las tablas representa el promedio de 30 conteos realizados por duplicado, estos fueron sometidos a una contrastación estadística con la prueba de t-Student con sus controles.

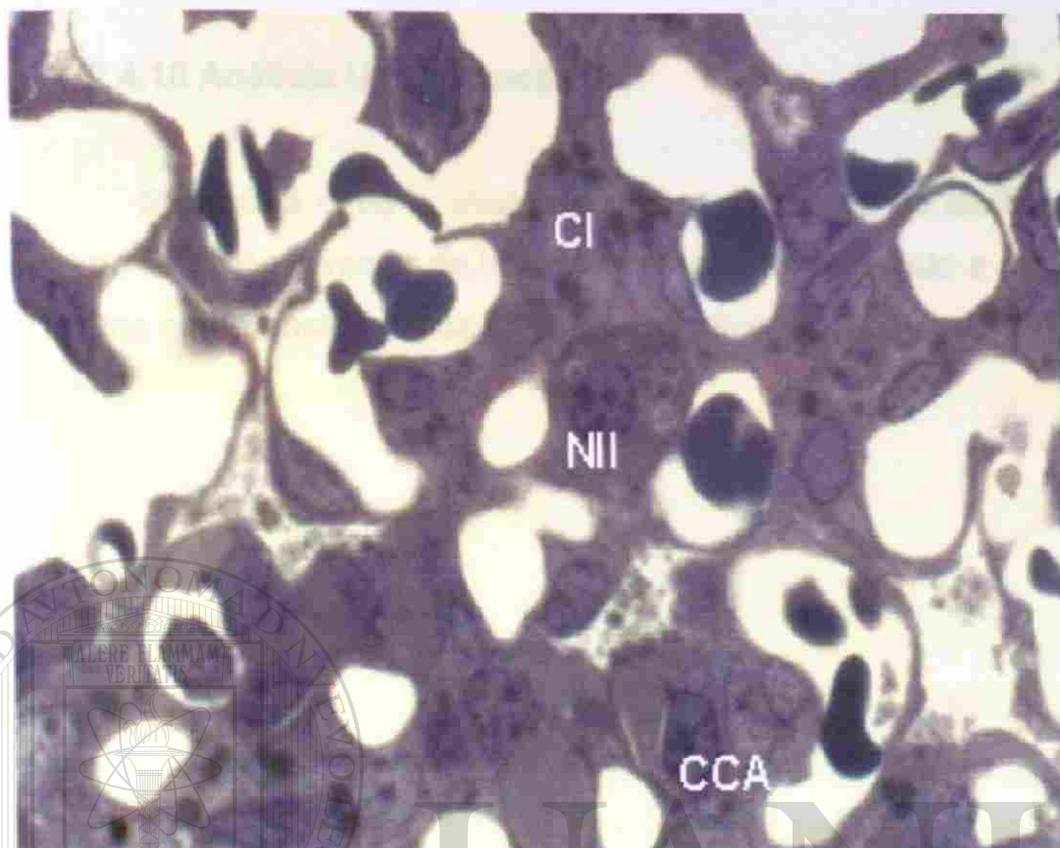


Figura 5. ANALISIS MORFOMETRICO: Pulmón de rata recién nacida que muestra los diferentes tipos de perfiles celulares que se contaron, neumocito II (NII), célula intersticial (CI) y las células claras de los alvéolos (CCA). Fotomicrografía de luz, inclusión en resinas epóxicas, corte semifino teñido con azul de toluidina 126x.

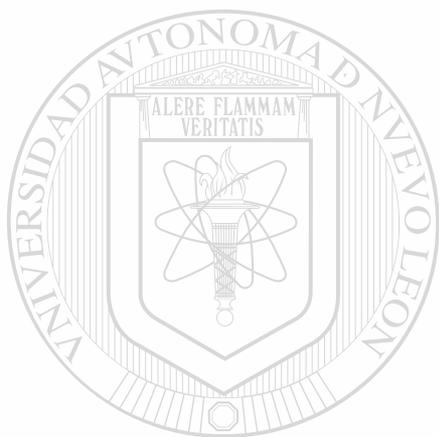
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.4.9 Microscopía electrónica

Se obtuvieron cortes finos con un ultramicrotomo LKB Broma Ultratome[®] modelo 2088, posteriormente fueron montados en rejillas de cobre y contrastados con acetato de uranilo y nitrato de plomo con la técnica de Vewable and Coggeshall^{62,63} y observados con el Microscopio Electrónico de Transmisión Carl-Zeiss EM-109.

2.4.10 Análisis Ultraestructural

Se llevó a cabo la evaluación ultraestructural de las células de la región alveolar de todos los grupos procediendo a realizar una comparación de los hallazgos morfológicos observados.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO TRES

RESULTADOS

3.1 Distribución de los grupos de trabajo

La cantidad total de ratas recién nacidas con las que se trabajó fue de 267, provenientes de 23 camadas. Cada camada presentó de 10 a 14 productos en promedio en los tres grupos.

Para obtener el porcentaje de óbitos y de anomalías externas de los recién nacidos del experimento, se agregaron a los 267 nacidos vivos 2 productos que nacieron muertos obteniendo 269 productos como el 100%; un óbito se presentó en el grupo control y uno en el grupo de dieta líquida con alcohol al 5% correspondiendo al 0.74% del total de los productos. Con relación a las anomalías externas sólo un producto presentó ano pequeño y pertenecía al grupo tratado con alcohol por lo que la incidencia de anomalías externas en la población estudiada fue de 0.37% Tabla II.

TABLA II

Distribución de los grupos de trabajo					
Dieta	Ratas	Recién nacidas	Obitos	Total	Anormalidades Externas
Control	8	76	1	77	0
Isocalórico.	6	76	0	76	0
Alcohol 5%	9	115	1	116	1**
	23 camadas	267	2*		269

* 0.74% de los productos nacieron muertos

** 0.37% La frecuencia de anomalías en toda la población de estudio

3.2 Niveles de alcohol en sangre

Los valores de los niveles de alcohol en sangre fueron cuantificados por cromatografía de gases. Las muestras se tomaron del grupo que recibió dieta líquida con alcohol al 5%, y se evaluaron los niveles a los 7, 14 y 21 días de gestación, los valores fueron en promedio de 50.37, 58.25 y 77.87 mg/dl respectivamente (Tabla III).

TABLA III

Valores de nivel de alcohol en sangre (mg/dl) durante la gestación detectados por cromatografía de gases			
Días	Media	±	D. S
7 n=5	50.37	±	16.79
14 n=5	58.25	±	18.59
21 n=5	77.87	±	8.06

3.3 Mediciones de peso total, longitud craneocaudal y peso húmedo del pulmón de ratas recién nacidas

3.3.1 Promedio de Peso Total

En las pruebas estadísticas de los valores del peso total corporal ninguno de los grupos mostró diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre los sexos de los recién nacidos, esto permitió tomarlos como un solo grupo y compararlos solo con las diferentes dietas (Fig. 6).

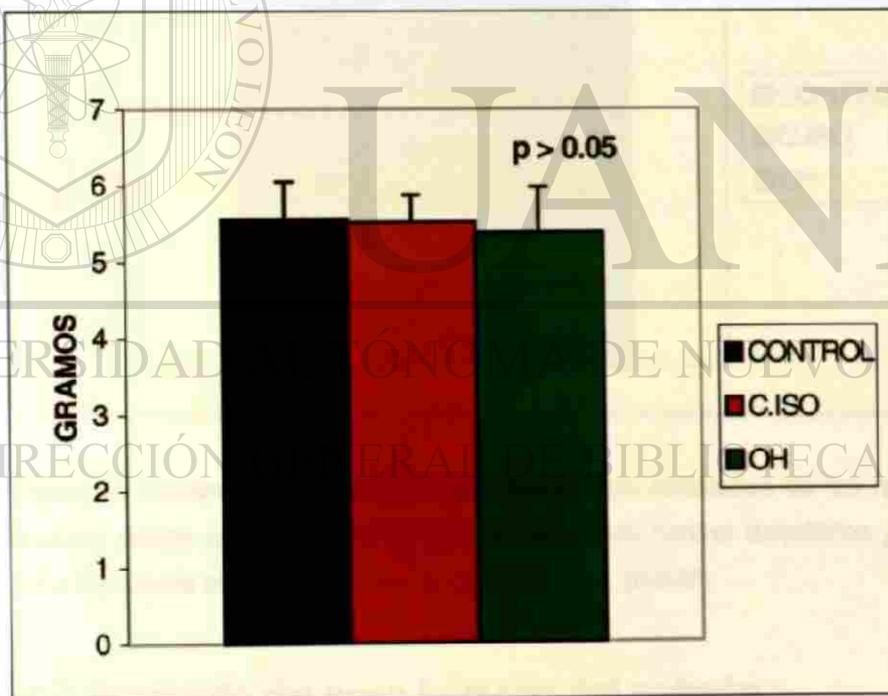


Figura 6. Promedio del peso total en gramos de las ratas recién nacidas donde se comparó el grupo control; grupo control isocalórico y grupo de dieta líquida de alcohol al 5%, $n=(76-115)$ con una $p > 0.05$.

3.3.2 Promedio de la longitud craneocaudal

En ninguno de los grupos los valores de la longitud craneocaudal se observó diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre el grupo tratado con alcohol en comparación a los controles (Fig. 7).

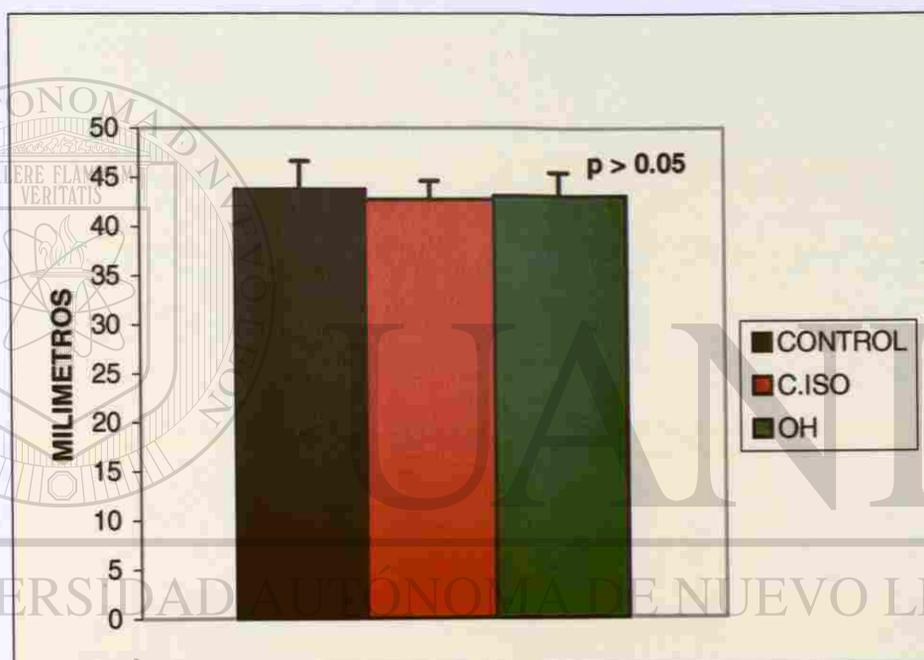


Figura 7. Promedio de la longitud craneocaudal en milímetros de las ratas recién nacidas donde se comparó el grupo control, grupo control isocalórico y grupo de dieta líquida de alcohol al 5%, $n=(76-115)$ con una $p > 0.05$.

3.3.3 Promedio del peso húmedo del pulmón

En el grupo de dieta líquida de alcohol al 5% los valores promedio del peso húmedo de pulmón, presentaron una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.05$) respecto a los grupos controles al analizarlos con la prueba de t de Student

los valores promedio fueron los siguientes: En el grupo tratado con alcohol se presentó 0.062 g de tejido húmedo en comparación a los valores de 0.107 g y 0.090 g de los controles absoluto e isocalórico respectivamente (Tabla IV, Fig.8).

TABLA IV

Promedio de peso húmedo del pulmón de ratas recién nacidas	
Grupos	Media (g) \pm D. S.
Control	0.107 \pm 0.01
Control isocalórico	0.090 \pm 0.25
Alcohol al 5%	0.062 \pm 0.06

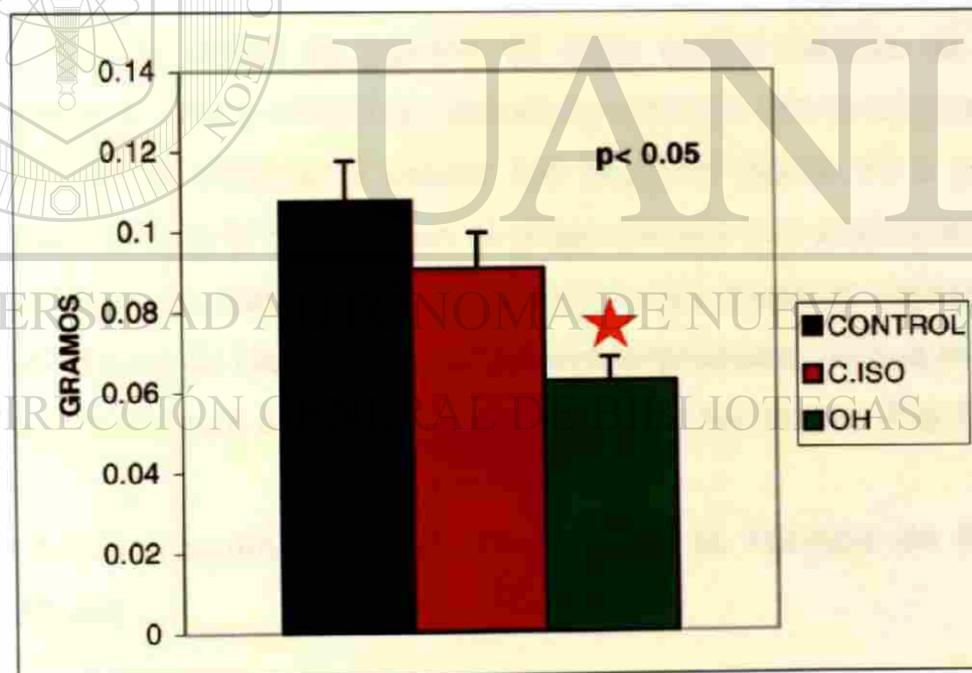


Figura 8. Valores promedio del peso húmedo de pulmón donde se comparó el grupo control, control isocalórico con el grupo de dieta líquida de alcohol al 5% que presenta diferencia estadística marcada con una estrella. $n=(76-115)$ y $p < 0.05$.

3.4 Análisis morfológico a microscopía de luz

3.4.1 Cortes teñidos con Hematoxilina y Eosina

En los cortes teñidos con hematoxilina y eosina los controles presentaron cavidades alveolares normales amplias y los tabiques alveolares bien delimitados y delgados (figura 9 a y b), mientras que en el grupo tratado con alcohol al 5%, se observaron cambios caracterizados por disminución de los espacios aéreos, ocasionada por el engrosamiento de los tabiques alveolares (Fig. 9c).

3.4.2 Histoquímica no enzimática con la Técnica de PAS

En los cortes de pulmón de ratas recién nacidas de los grupos control y control isocalórico la reacción con la técnica de PAS en el citoplasma celular fue negativa (figura 10 a y b), mientras que la reacción en el grupo tratado con alcohol al 5% fue evidente, manifestada por la tinción rosa magenta intenso en las células de los tabiques alveolares engrosados, lo que indica la presencia de depósitos de glucógeno en las células (Fig. 10c).

3.4.3 Histoquímica no enzimática con la Técnica de Rojo Oleoso

En los cortes teñidos con la técnica de Rojo Oleoso de los controles absoluto y control isocalórico, se observaron algunas células aisladas positivas a la reacción, que mostraron un color rojo intenso (figura 11a y b). En contraste en el grupo de dieta

con alcohol al 5%, los abundantes depósitos de color rojo intenso en las células de los tabiques indican la interacción del colorante Rojo Oleoso con grasas neutras (Fig. 11c).

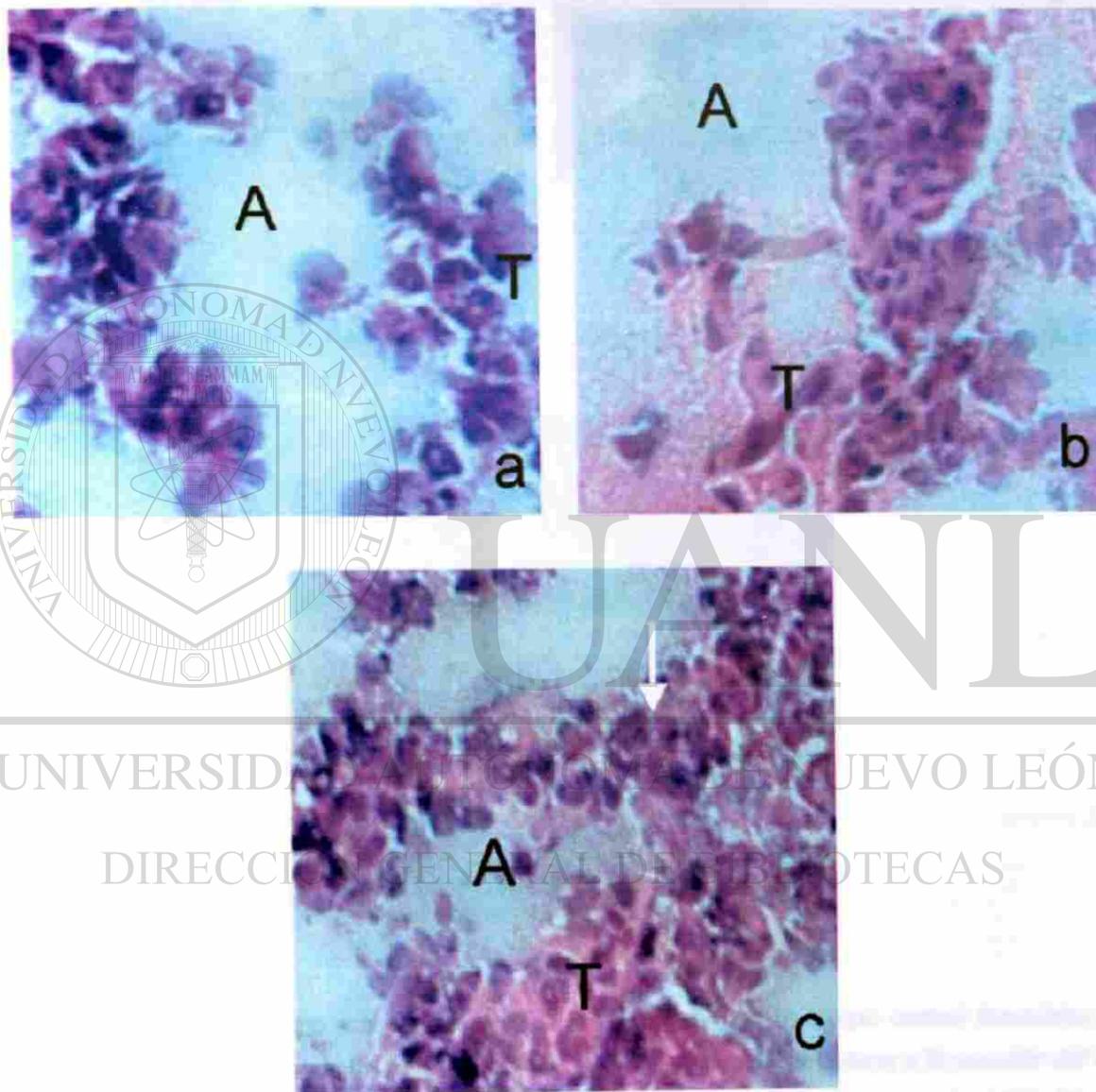


Figura 9. Pulmón de rata recién nacida. a) Grupo control; b) Grupo control isocalórico. Se observó a los espacios alveolares distendidos (marcados con la letra A) y los tabiques delgados (marcados con la letra T) en comparación al c) Grupo tratado con alcohol al 5%, con tabiques alveolares engrosados (flecha) y alvéolos reducidos. Fotomicrografía de luz de cortes de congelación 7 μ m teñidos con Hematoxilina y Eosina 360.8x.

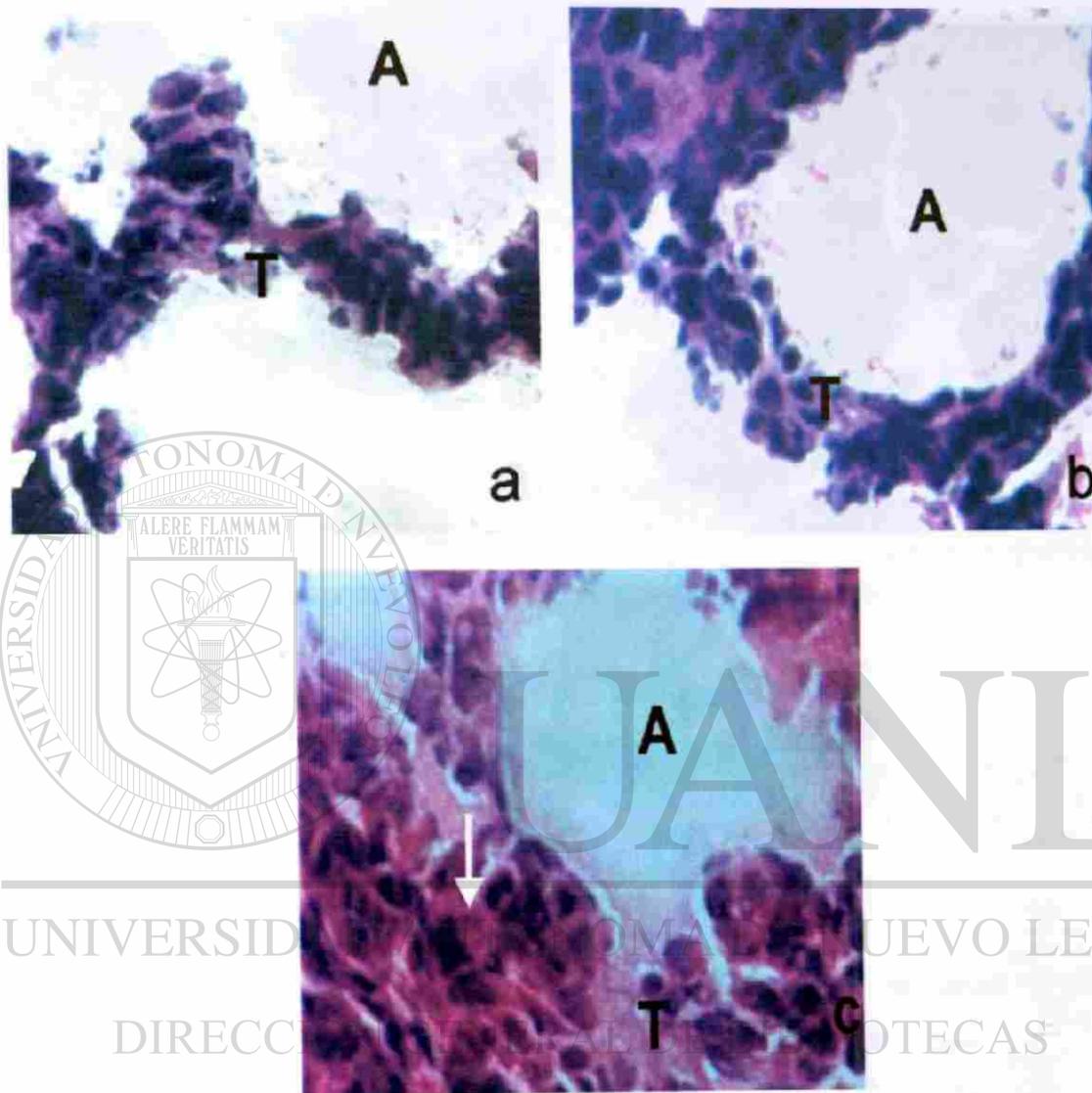


Figura 10. Pulmón de rata recién nacida. a) Grupo control; b) Grupo control isocalórico. Se observó en los tabiques (marcados con la letra T) a las células negativas a la reacción del PAS y los espacios alveolares se encontraron distendidos (marcados con la letra A); en comparación con el c) Grupo tratado con alcohol al 5%, presentó los tabiques alveolares engrosados y positivos a la reacción de PAS, una coloración magenta (marcado con una flecha). Fotomicrografía de luz de cortes de congelación 7µm teñidos. 360.8x.

Revista de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Nuevo León

Vol. 10 No. 1, 2010

3.3. Análisis de la histología del pulmón

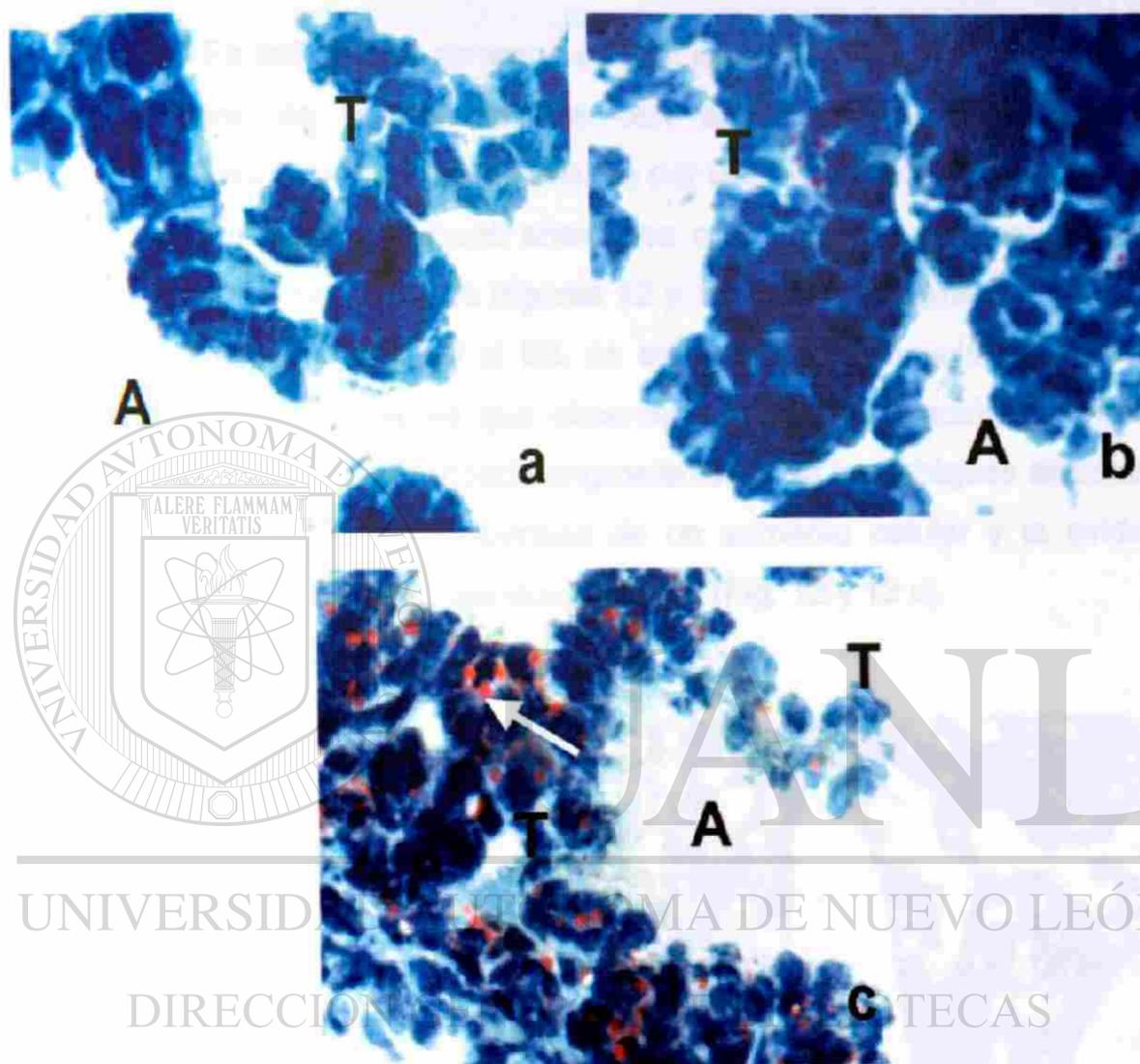


Figura 11. Pulmón de rata recién nacida a) Grupo control; b) Grupo control isocalórico. Se observó a las escasas y aisladas células positivas a la reacción del Rojo Oleoso en los tabiques alveolares (marcados con la letra T) y alvéolos distendidos (marcados con la letra A) en comparación al grupo c) tratado con alcohol al 5% donde los tabiques alveolares engrosados que mostraron abundantes depósitos de color rojo intenso que evidenció la positividad al colorante Rojo Oleoso (marcado con una flecha). Fotomicrografía de luz, de cortes de congelación 7 μ m teñidos con Rojo Oleoso 360.8x.

3.5 Análisis de la histología del pulmón

En los grupos control y control isocalórico (figuras 12 y 13), los cortes de pulmón teñidos con azul de toluidina presentaron histología normal, caracterizada por una estructura reticular formada por delgados tabiques alveolares que limitan los espacios aéreos distendidos, alvéolos (figuras 12 y 13 a, b). En la imagen del grupo tratado con alcohol al 5% es evidente la disminución del patrón reticular normal, ya que observamos la compactación general del pulmón, con el marcado engrosamiento de los tabiques alveolares, aparentemente a expensas de un aumento celular y la evidente disminución de los espacios aéreos (Fig. 12 y 13 c).

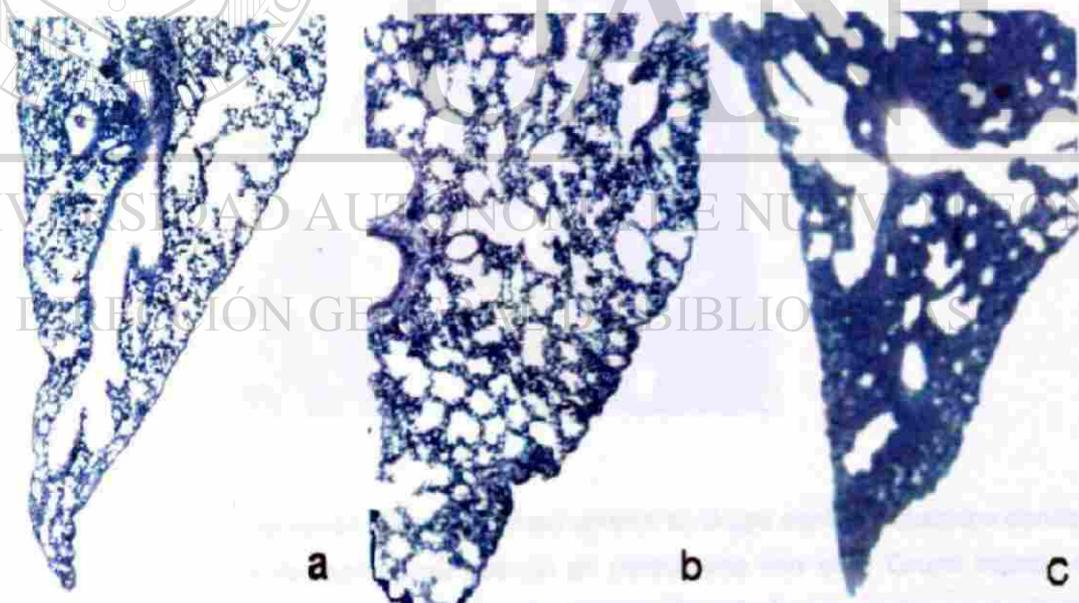


Figura 12. Pulmón de rata recién nacida: a) Grupo control; b) Grupo control isocalórico, donde se observó el patrón reticular normal del pulmón en comparación al c) Grupo tratado con alcohol al 5% con una compactación generalizada del pulmón. Cortes incluidos en resinas, epóxicas, teñidos con azul de toluidina 12.5x.

4.4.1 Histología

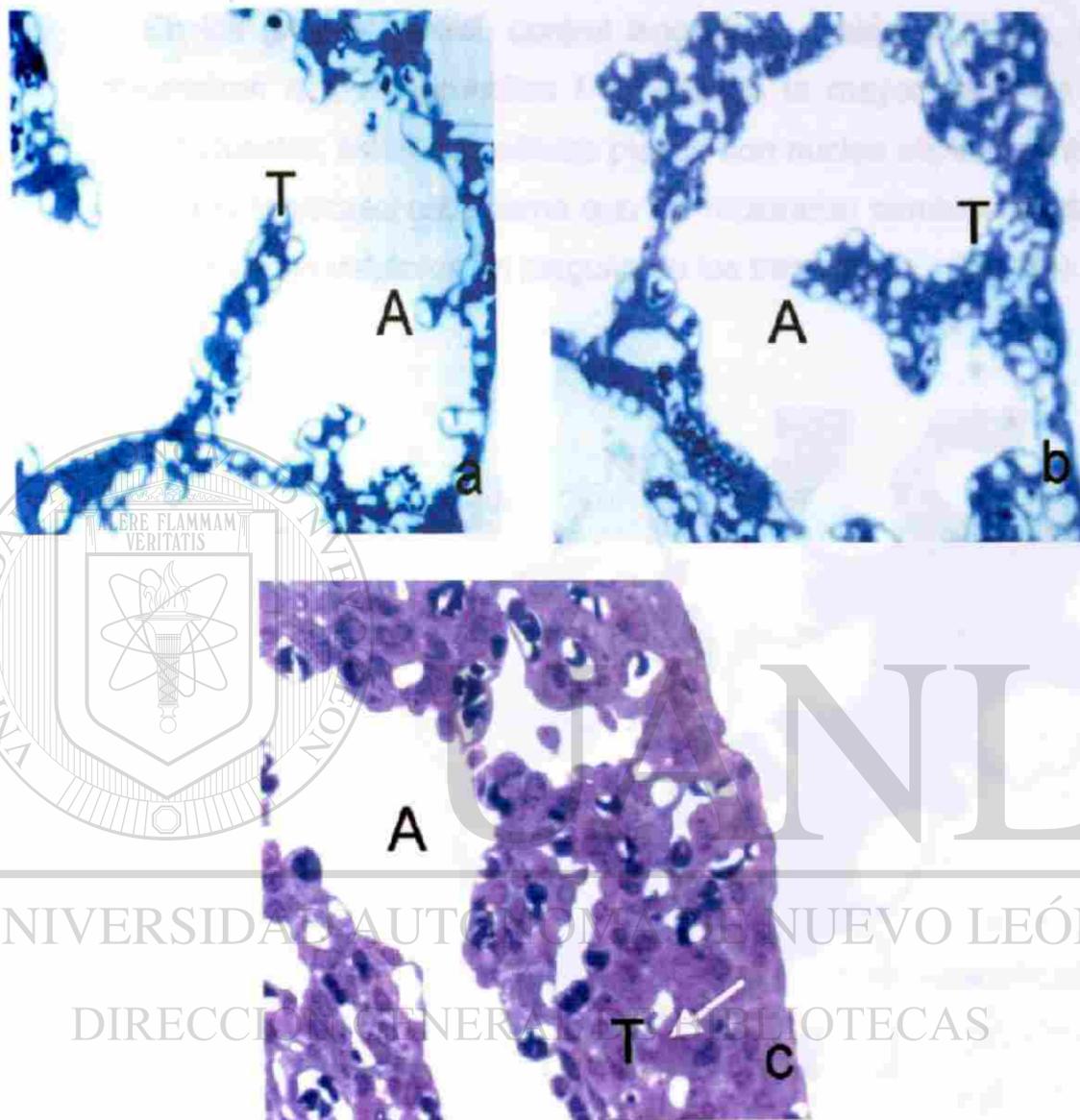


Figura 13. Pulmón de rata recién nacida: a) Grupo control; b) Grupo control isocalórico donde se observó el patrón reticular normal del pulmón en contraparte con el c) Grupo tratado con alcohol al 5% que mostró la compactación generalizada del pulmón (marcada con una flecha). Cortes incluidos en resinas epóxicas, teñidos con azul de toluidina 25.6x.

3.5.1 Neumocitos I

En los grupos control, control isocalórico y alcohol al 5%, se observaron a los neumocitos I revistiendo la mayor parte de la pared alveolar; éstas son células planas con núcleo elíptico central aplanado y escaso citoplasma que no mostraron cambios en sus características celulares en ninguno de los tres grupos (Fig. 14).

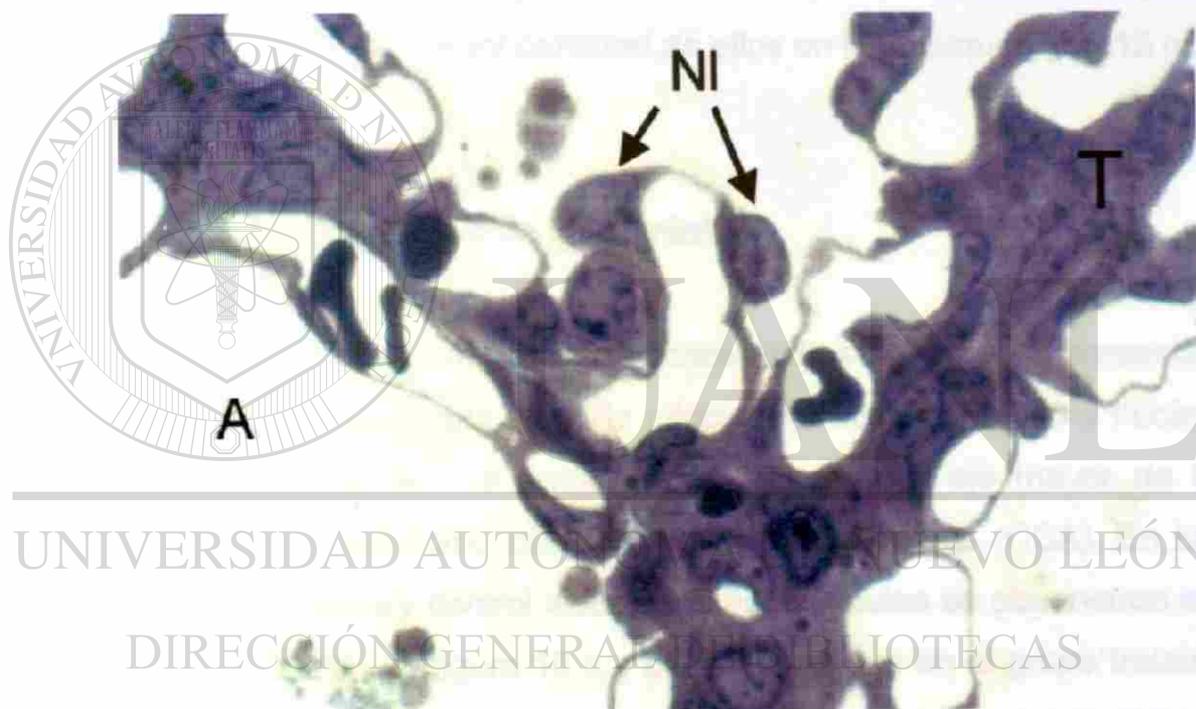


Figura 14. Pulmón de rata recién nacida del grupo control donde se observan neumocitos I (NI) marcados con una flecha. Estos presentaron la misma morfología en todos los grupos. Fotomicrografía de luz de cortes incluidos en resinas epóxicas, teñidos con azul de toluidina 75x.

3.5.2 Neumocitos II

Los neumocitos II maduros en los grupos control y control isocalórico son células redondeadas que revisten parte de la pared, presentan abundantes cuerpos lamelares en su citoplasma, esto permitió identificar las células inequívocamente a microscopía de luz (figura 15 a y b). En el grupo tratado con alcohol las características morfológicas del neumocito II no se alteraron, pero se observó una menor cantidad de ellos en los tabiques (Fig. 15 c).

3.5.3 Células Claras de los Alvéolos

Mezcladas entre los neumocitos I y II, se observó la presencia de células cilíndricas altas de citoplasma acidófilo pálido y núcleo elíptico rechazado al tercio basal, siguiendo el eje mayor de la célula y se les llamo células claras de los alvéolos (CCA). En los grupos control y control isocalórico estas células se observaron en menor cantidad (figura 16 a y b), mientras que en el grupo tratado con alcohol al 5% se presentaron con las mismas características morfológicas que en los controles sólo que en este grupo fueron más abundantes en los alvéolos (Fig. 16 c).

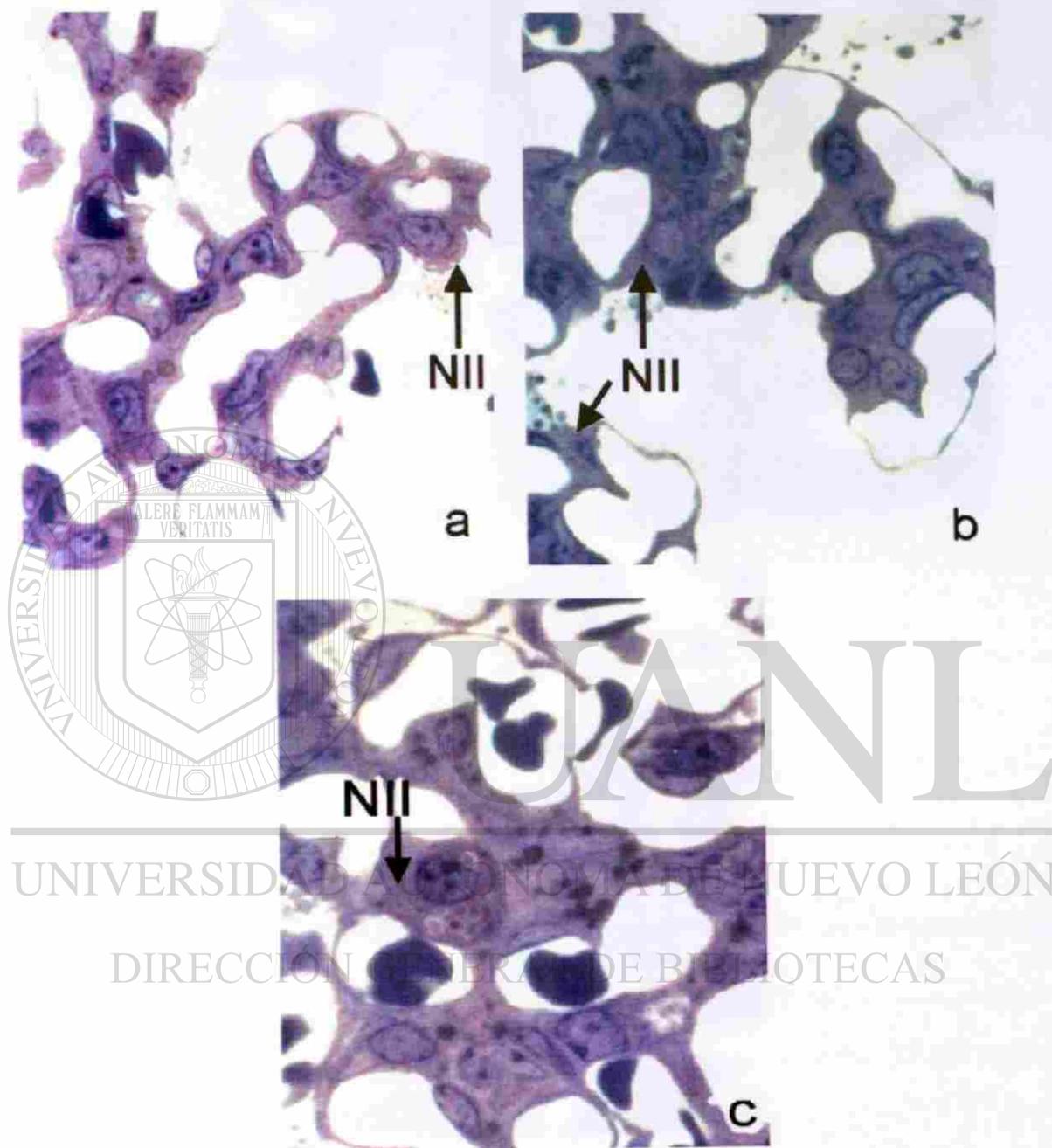


Figura 15. Pulmón de rata recién nacida. a) Grupo control; b) Grupo control isocalórico y c) Grupo tratado con alcohol 5% en todos los grupos se observó a los neumocitos II (NII). Fotomicrografía de luz cortes incluidos en resinas epóxicas, teñidos con azul de toluidina 75x.

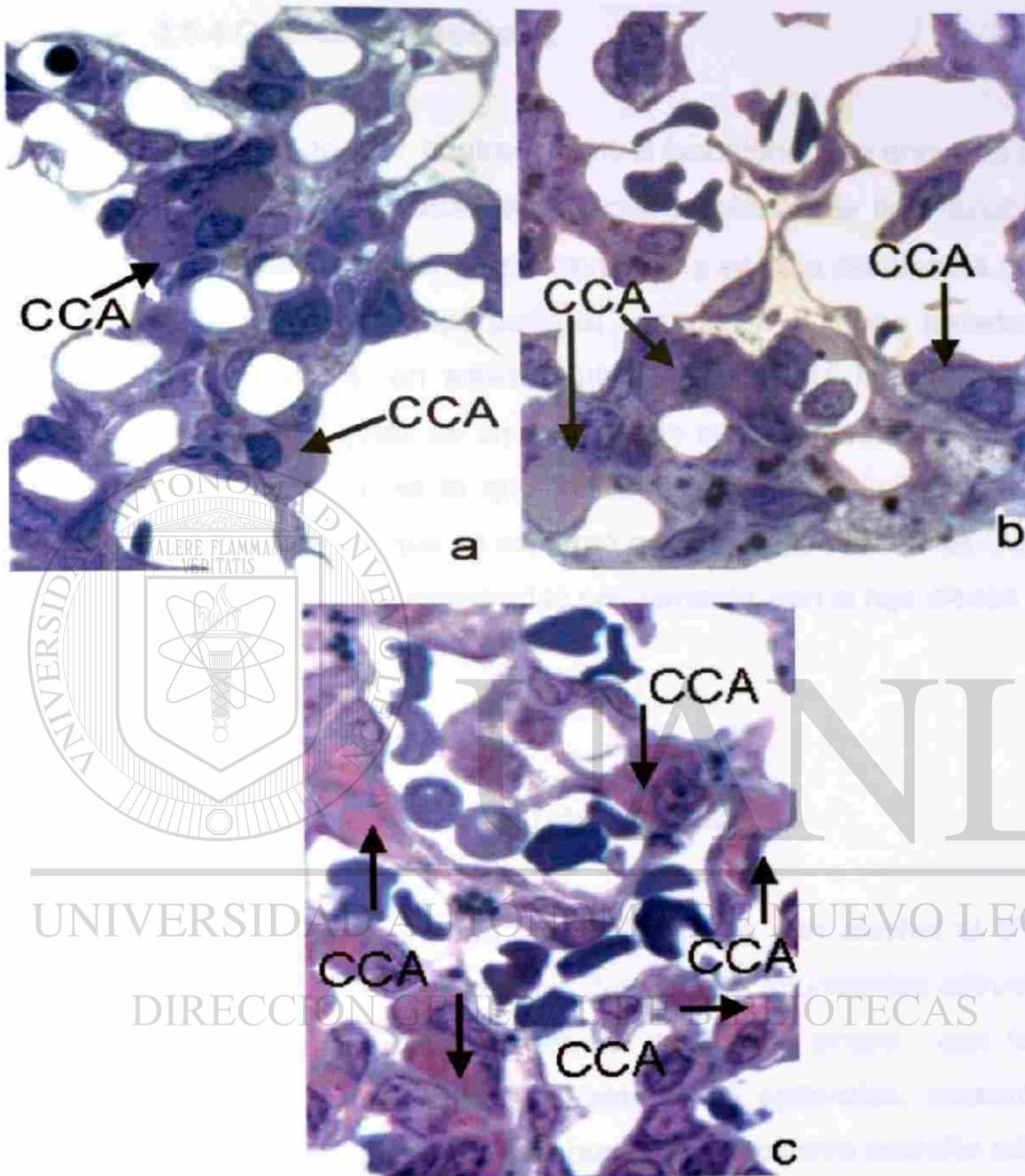
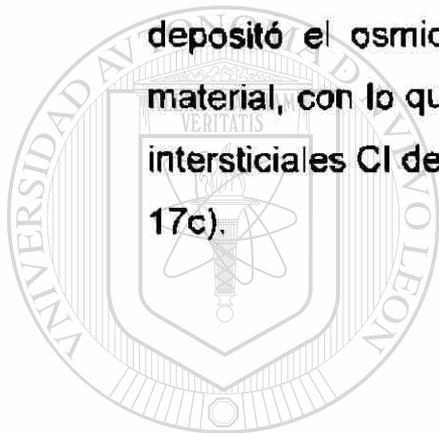


Figura 16. Pulmón de rata recién nacida. a) Grupo control; b) Grupo control isocalórico y c) Grupo tratado con alcohol 5%, en todos los grupos se observó a las células claras de los alvéolos (CCA). Fotomicrografía de luz cortes incluidos en resinas epóxicas, teñidos con azul de toluidina 75x.

3.5.4 Células Intersticiales

En los grupos control y control isocalórico, se encontró en el intersticio de los tabiques alveolares células de tipo fibroblasto con núcleo irregular heterocromático y escaso citoplasma (figura 17 a y b). En comparación al control, en el grupo tratado con alcohol al 5%, en estas células se demostró la presencia de abundantes gotas de un material de aspecto oscuro, donde se depositó el osmio lo que indicó la naturaleza lipídica de este material, con lo que se confirmó que correspondían a las Células intersticiales CI demostradas previamente con el rojo oleoso (Fig. 17c).



UANL

3.6 Tubos epiteliales

En el grupo tratado con dieta líquida con alcohol al 5% Se observó en la zona periférica del pulmón, abundantes estructuras de apariencia tubular revestidas de epitelio simple, que fueron escasos en los controles. Estos tubos epiteliales, presentaron células cilíndricas altas, de abundante citoplasma acidófilo pálido y núcleo elíptico rechazado al tercio basal, siguiendo el eje mayor de la célula, de apariencia muy similar a las CCA previamente descritas (Fig. 18).

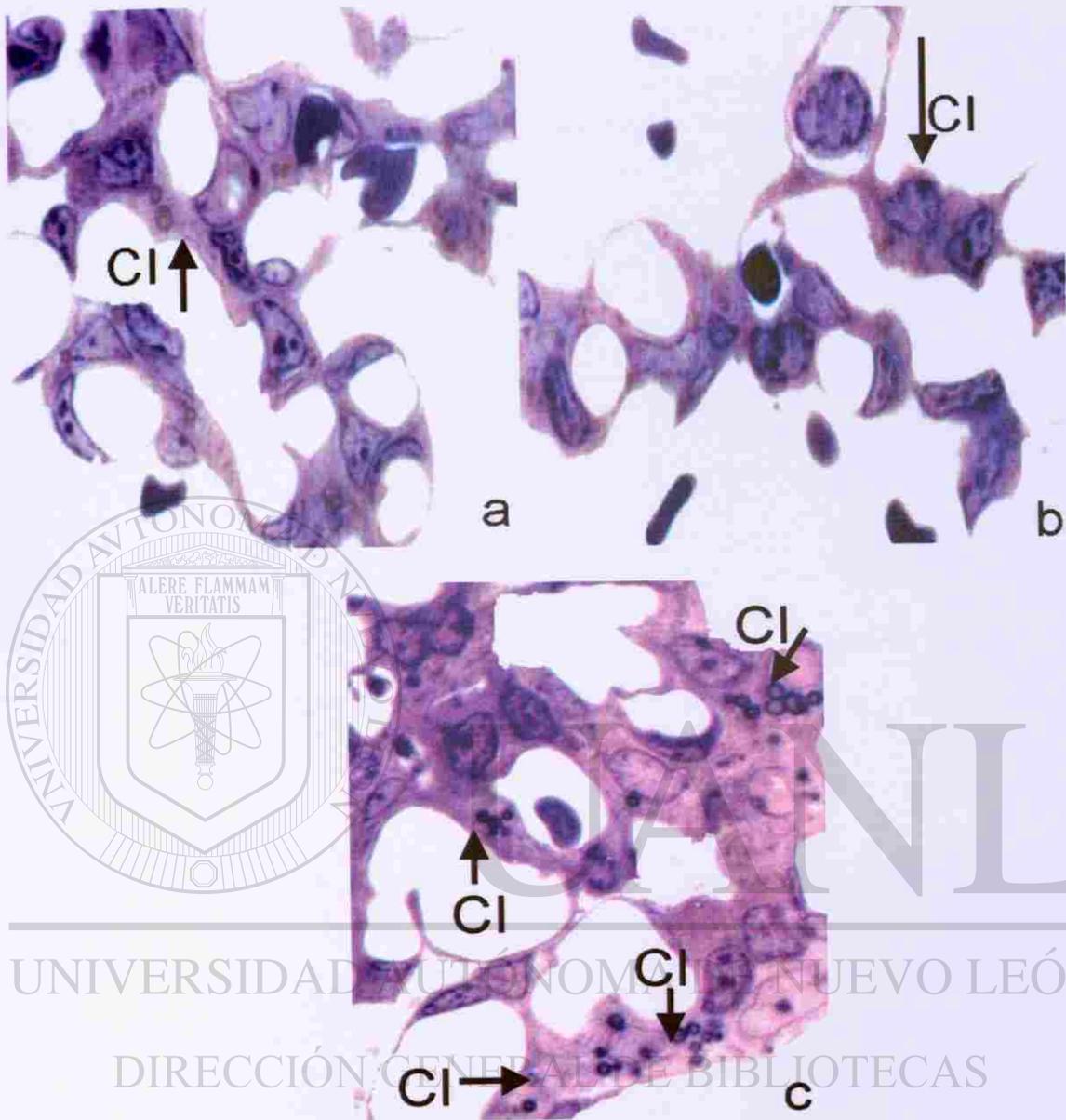


Figura 17. Pulmón de rata recién nacida de la región alveolar. a) Grupo control; b) Grupo control isocalórico. Se observó en las CI on escasas inclusiones osmiofílicas, en contraste al c) Grupo tratado con alcohol 5% los depósitos fueron muy abundantes marcados por las flechas. Cortes semifinos incluidos en resinas epóxicas, teñidos con azul de toluidina 75x.

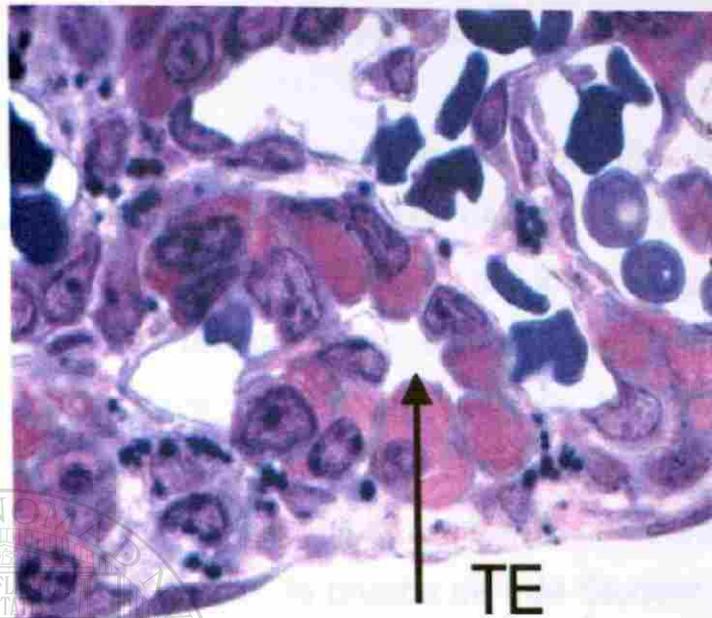


Figura 18. Pulmón de rata recién nacida tratado con alcohol 5%. Se observó en la región alveolar de la zona periférica abundantes tubos epiteliales (TE). Cortes semifinos incluidos en resinas epóxicas, teñidos con azul de toluidina 75x.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.7 Análisis morfométrico

Para evaluar la maduración del pulmón con base a la identificación morfológica de las células se realizó un análisis morfométrico a microscopía de luz del lóbulo superior del pulmón izquierdo de rata recién nacida. Contabilizamos los perfiles de las células neumocitos II, células claras de los alvéolos y células intersticiales contenidas en 100 alvéolos de las zonas central y periférica del pulmón. Se llevó a cabo la comparación estadística entre ambos sexos con la prueba de t de Student ($p > 0.05$) y al no mostrar diferencia significativa entre ellos, se tomaron los valores como un solo grupo y se comparó con las distintas modalidades de dietas.

3.7.1 Análisis morfométrico de la zona central del pulmón en los grupos control, control Isocalórico y de dieta líquida de alcohol al 5%

Se analizó el número de perfiles de las células NII, CCA y CI contenidos en cien alvéolos en la zona central del pulmón. La cantidad de los NII entre los grupos no mostró diferencias estadísticamente significativa ($p > 0.05$). En cambio el valor que presentaron las CCA para el grupo tratado con alcohol al 5% evidenció un aumento estadísticamente significativo en

comparación a los controles con la prueba de t de Student ($p < 0.05$). De igual forma el número de las CI en el grupo tratado con alcohol al 5% presentó un aumento significativo en comparación a los controles con la prueba de t de Student ($p < 0.05$) (Fig.19) tabla III, apéndice A.

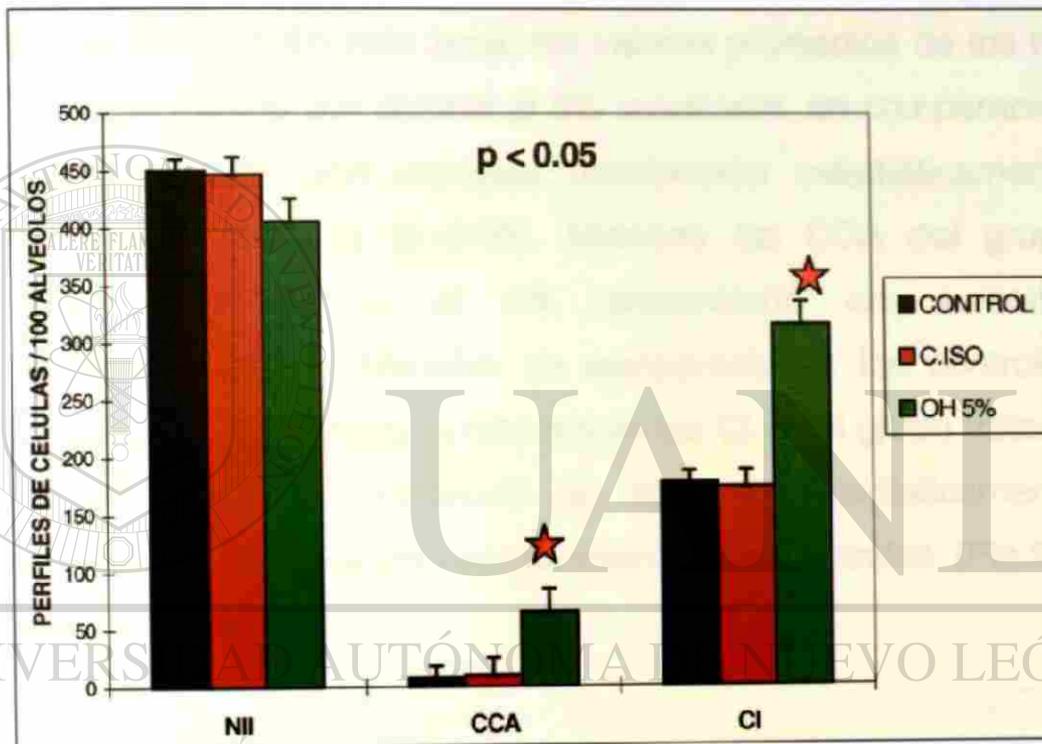


Figura 19. Promedio de perfiles de neumocitos II (NII), células claras de los alvéolos (CCA) y células intersticiales (CI) por cien alvéolos en la zona central del pulmón, donde se comparó el grupo control y control isocalórico con el grupo de dieta líquida con alcohol al 5% mostrando con una estrella donde existieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

3.7.2 Análisis morfométrico de la zona periférica del pulmón en los grupos control, control Isocalórico y de dieta líquida de alcohol al 5%

Se analizó el número de perfiles de NII, CCA y CI contenidos en cien alvéolos en la zona periférica del pulmón con la prueba de t de Student. En esta zona, los valores promedios de los NII del grupo tratado con alcohol al 5% mostraron, en comparación a los controles una marcada disminución estadísticamente significativa con una ($p < 0.05$). Mientras las CCA del grupo tratado con alcohol al 5% presentaron un aumento estadísticamente significativo en comparación a los controles ($p < 0.05$). De igual forma el número de las CI en el grupo tratado con alcohol al 5% evidenció un aumento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en comparación a los controles (Fig.20) tabla IV, apéndice A.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

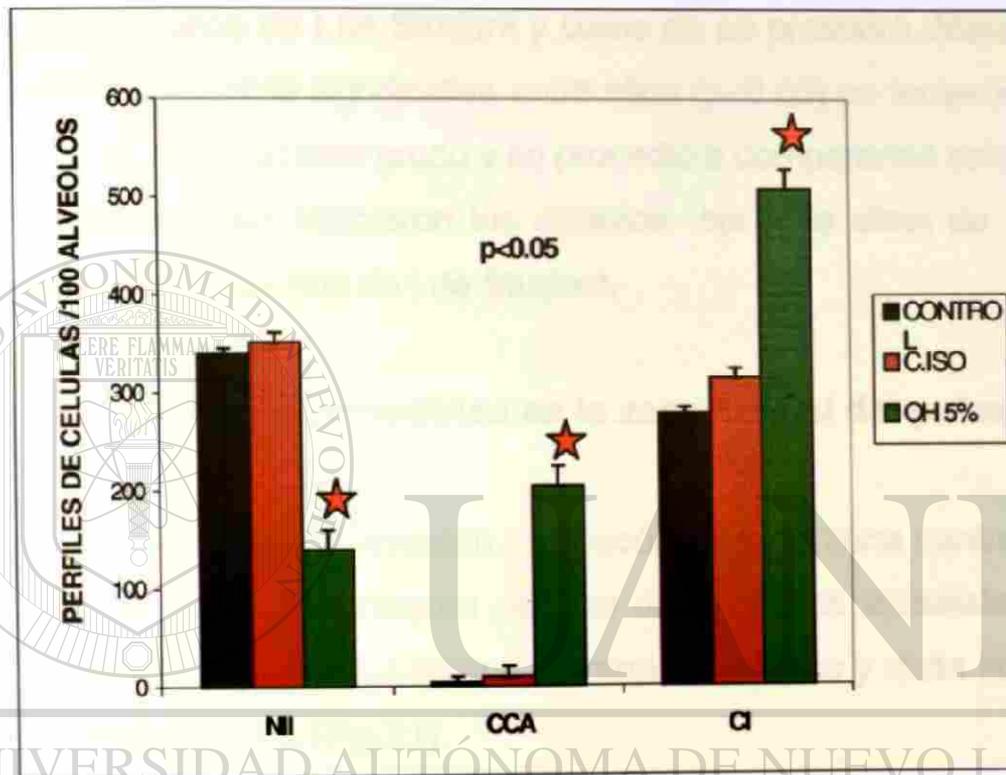


Figura 20. Promedio de perfiles de neumocitos II (NII), células claras de los alveolos (CCA) y células intersticiales (CI) por cien alveolos en la zona periférica del pulmón. Se comparó a los grupos control y control isocalórico con el grupo de dieta líquida con alcohol al 5%, se marca con estrellas las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

3.8 Análisis morfométrico de los tubos epiteliales

Inicialmente y al igual que en los otros conteos del análisis se hizo la comparación entre los tubos epiteliales para cada sexo con la prueba de t de Student y como no se presentó diferencia estadísticamente significativa entre ellos ($p < 0.05$) se tomaron los valores como un solo grupo y se procedió a compararlos solo con los grupos que recibieron los distintos tipos de dieta de igual forma con la prueba de t de Student.

3.8.1 Análisis morfométrico en la zona central del pulmón

Al realizar la observación microscópica de la zona central del pulmón no se encontraron perfiles de los tubos epiteliales en ninguno de los grupos control, control isocalórico y dieta líquida de alcohol al 5% (Fig.21).

3.8.2 Análisis morfométrico en la zona periférica del pulmón de los grupos control, control isocalórico y grupo tratado con alcohol 5%

Al contabilizar los perfiles de los tubos epiteliales de grupo tratado con alcohol al 5% se encontró un aumento en el número de perfiles, estadísticamente significativo al compararlo con los grupos control y control isocalórico utilizando la prueba de t de Student. ($p < 0.05$) (Fig. 21) Tabla V en apéndice A .

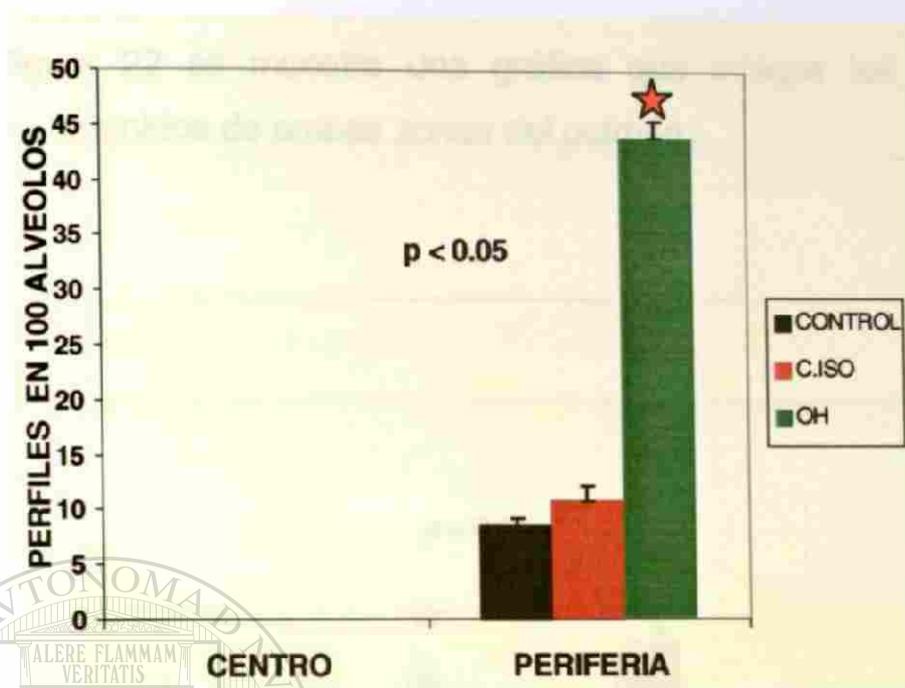


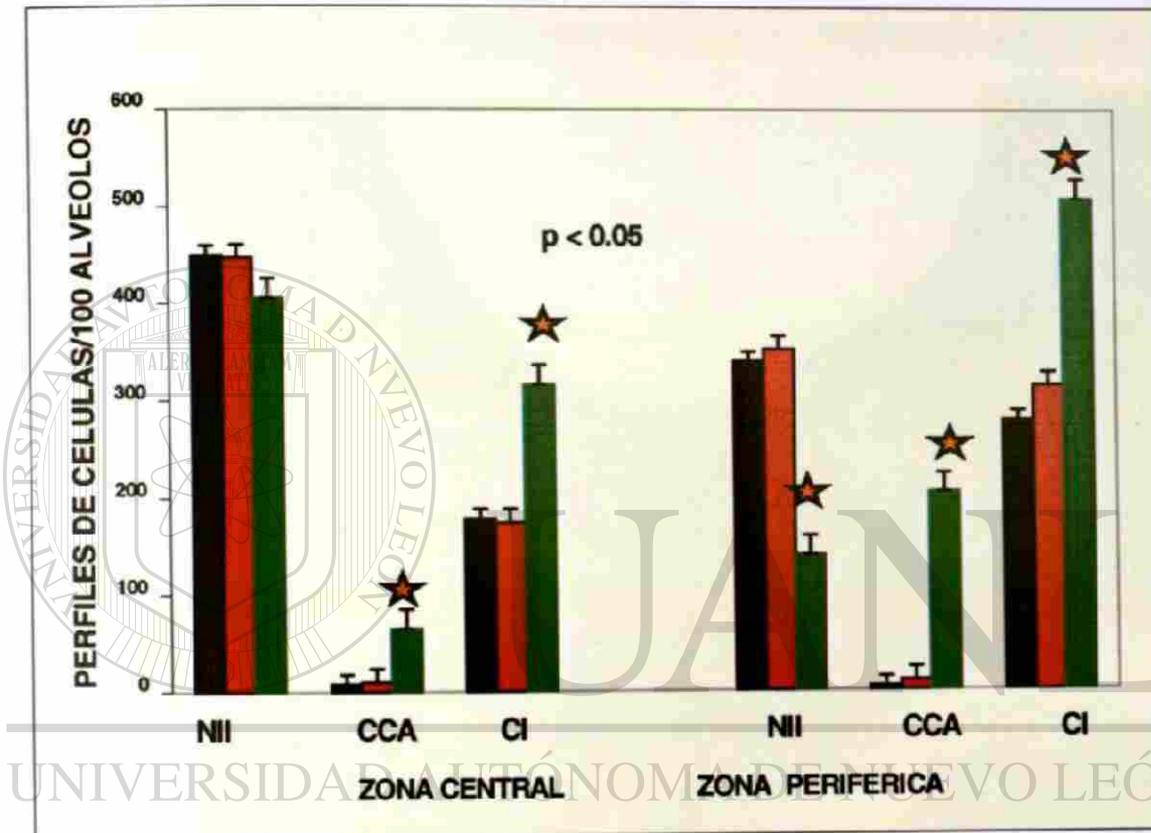
Figura 21. Promedio del número de perfiles de tubos epiteliales contenidos en 100 alvéolos en la zona del centro y la en periferia del pulmón. Se comparó a los grupos control y control isocalórico con el grupo de dieta líquida de alcohol al 5%. Se marca con una estrella el grupo que presentó un aumento estadísticamente significativa un valor de $p < 0.05$.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

En la figura 22 se muestra una gráfica que integra los valores promedio obtenidos de ambas zonas del pulmón.



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Figura 22. Se comparó a los valores promedio del número de los perfiles celulares contenidos en 100 alvéolos en la zona central y periférica del pulmón neumocitos II (NII), células claras de los alvéolos (CCA) y células intersticiales (CI) de los grupos control y control isocalórico con el grupo de dieta con alcohol al 5% con la prueba de t de Student y donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) se marcaron con estrellas.

3.9 Análisis Ultraestructural

3.9.1 Neumocito II

En todos los grupos los neumocitos II presentaron diferencias en la electrodensidad de su citoplasma debido al

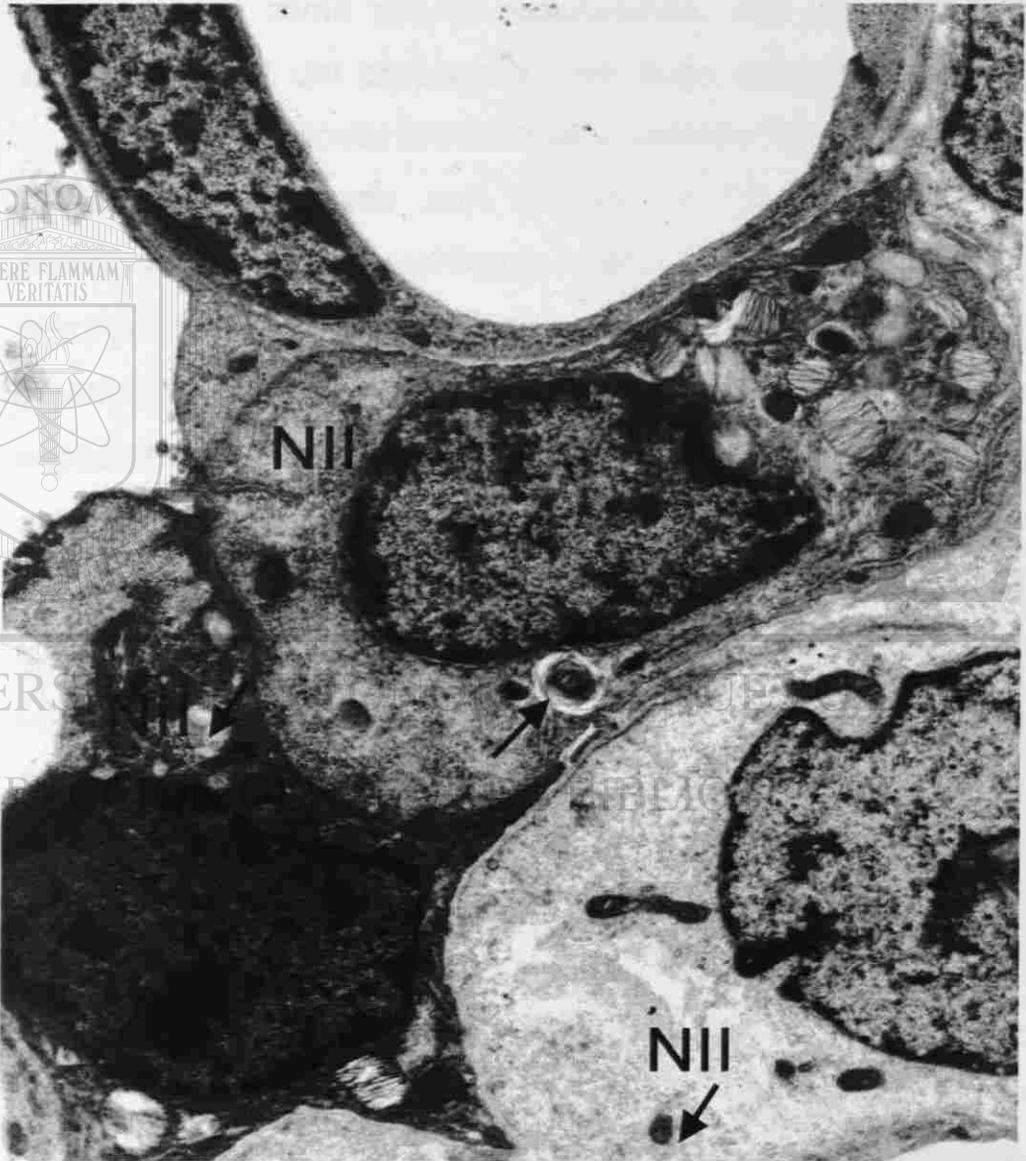


Figura 23. Micrografía electrónica de transmisión donde los neumocitos II (NII) que mostraron diferentes grados de electrodensidad de su citoplasma y diferencias en los cuerpos lamelares indicados con flechas 4,400x.

desarrollo de sus organelos, particularmente los cuerpos lamelares y las regiones del citoplasma donde estaban los depósitos de glucógeno, por lo que se fue posible distinguir diferentes aspectos en su citoplasma (Fig. 23).

En los grupos control y control isocalórico se observaron los neumocitos II como células redondeadas con una marcada electrodensidad del citoplasma, con buen desarrollo de sus organelos, en particular los cuerpos lamelares (figura 24 a y b).

En el grupo tratado con alcohol al 5%, algunos los neumocitos II presentaron diferentes grados de electrodensidad evidenciado por grandes zonas electrolúcidas en el citoplasma, que correspondían a los espacios que ocupaban los depósitos de glucógeno, que se extrajeron durante en el porcesamiento para M.E. Todos los organelos mostraron pobre desarrollo en particular los

cuerpos lamelares que fueron pequeños y escasos. (Fig. 24 c). Las células claras de los alvéolos descritas previamente a microscopía de luz, se localizaron tanto en los alvéolos como en los tubos epiteliales y correspondieron a neumocitos II inmaduros.

3.9.1.1 Organelos de los Neumocitos II

Debido a las características de la electrodensidad disminuida de los neumocitos II en particular en el grupo tratado con alcohol al 5%, en comparación a los controles (figura 25 a y b), se realizó la revisión de los principales organelos y se observó

que se encontraron presentes e íntegros en todos los grupos, solo que en el grupo de alcohol en comparación con los controles presentaron menor desarrollo (Fig. 25c).

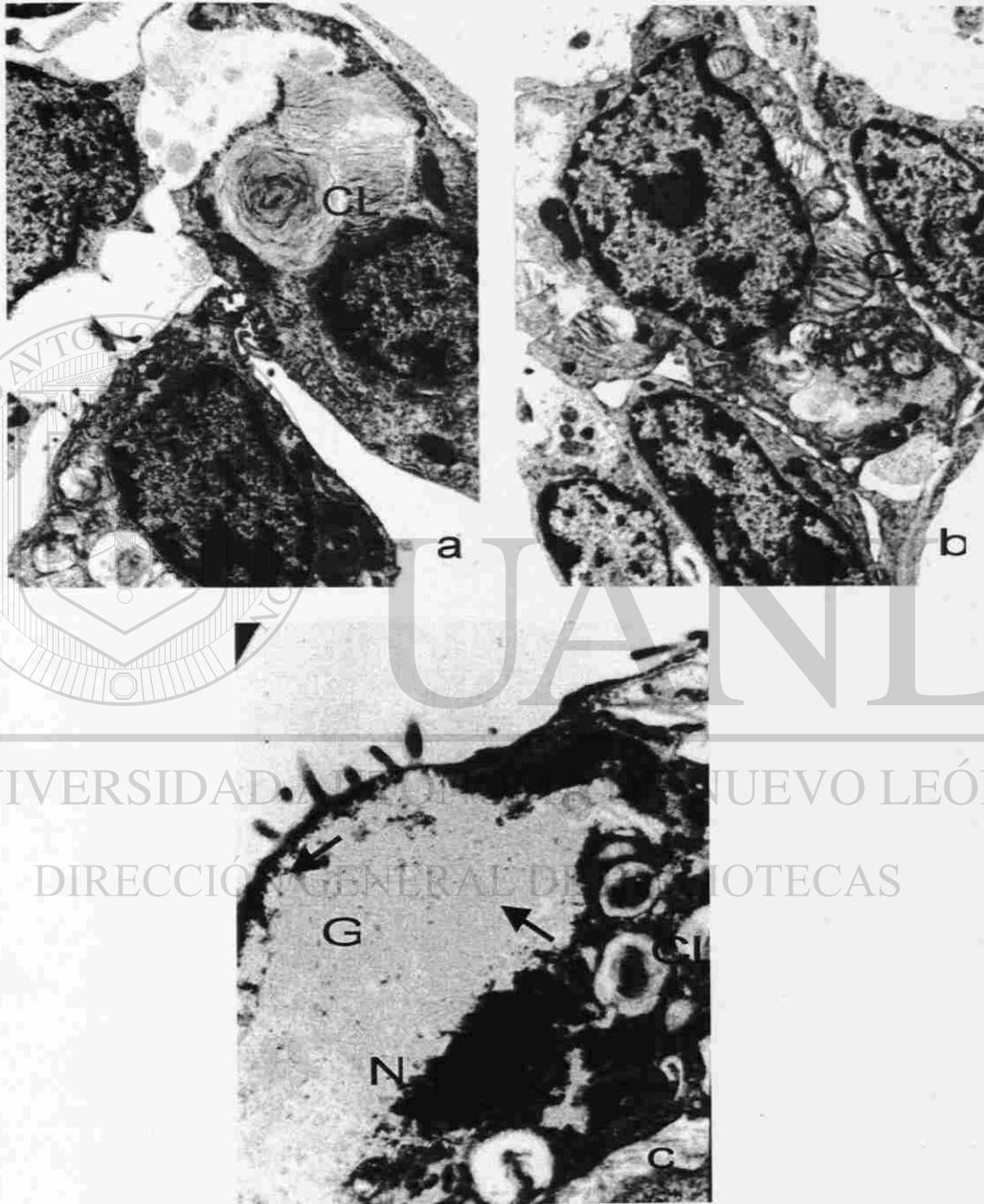


Figura 24. Micrografías electrónicas de transmisión de los neumocitos II en los grupos: a) Control y b) Control isocalórico, donde se observaron grandes cuerpos lamelares en su citoplasma indicado con CL; en el c) Dieta líquida con alcohol al 5% los cuerpos lamelares fueron escasos y pequeños, las zonas donde se localizaban los depósitos de glucógeno se marcaron con una G y con flechas, el núcleo con una N 4,400x.

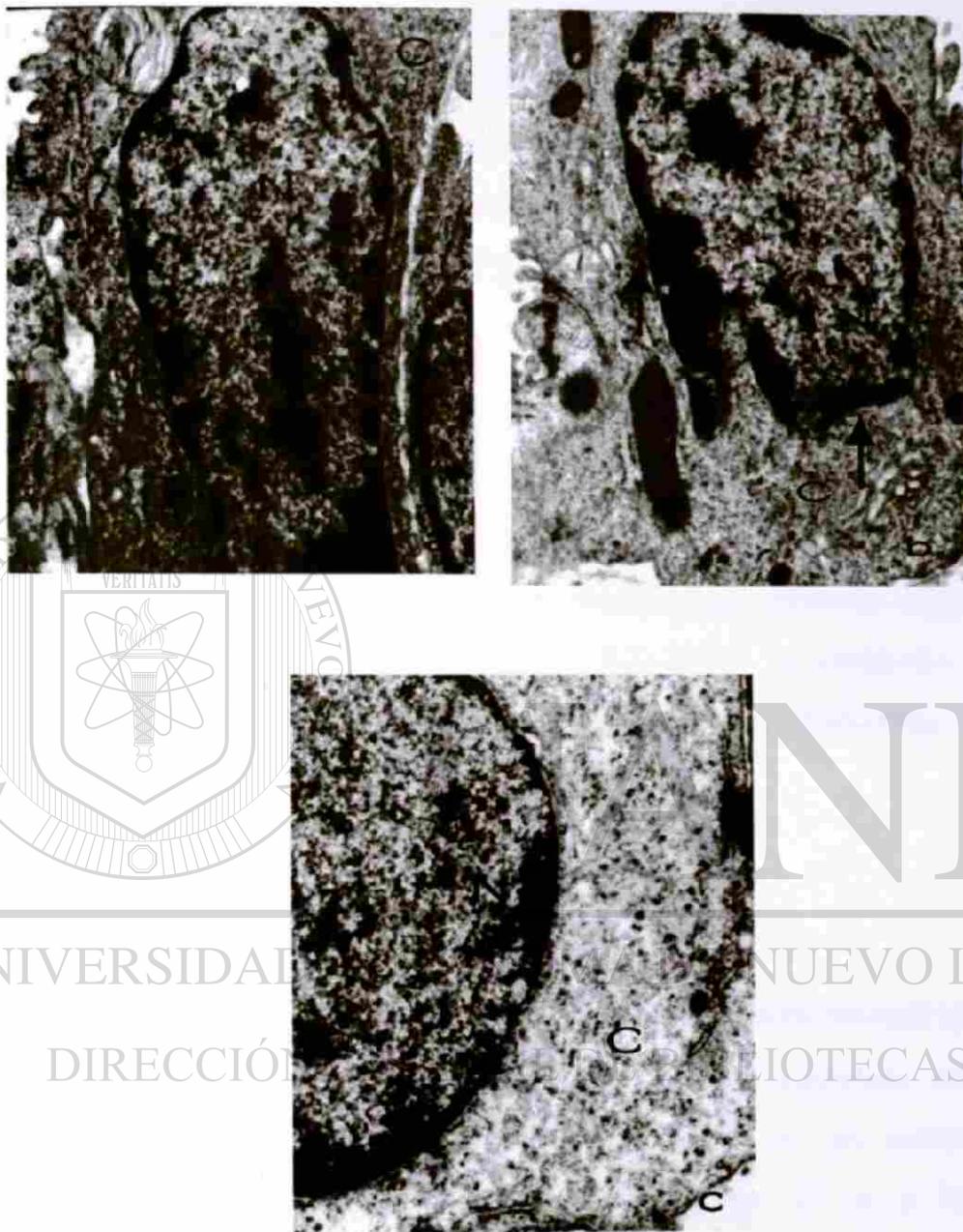


Figura 25. Micrografías electrónicas de transmisión del citoplasma de los neumocitos II en a) Grupos control; b) Grupos control isocalórico; y c) Grupos de dieta líquida con alcohol al 5%. Se observaron núcleos marcados con una N y el citoplasma marcado con una C donde se encontraron con grados variables de electrodensidad, estas diferencias fueron ocasionadas por disminución en la cantidad de organelos y por los grandes espacios donde se depositaba el glucógeno marcado con una flecha 7,400x.

3.9.1.1.1 Cuerpos lamelares

De la misma forma los cuerpos lamelares en los grupos control absoluto y el grupo control isocalórico fueron voluminosos y abundantes en los neumocitos II, en el grupo tratado con alcohol al 5%, se conservaron íntegros pero fueron pequeños y pobremente desarrollados (Fig. 26).

3.9.1.1.2 Aparato de Golgi

El aparato de Golgi en el grupo control absoluto y el grupo control isocalórico se localizaba en la región perinuclear y mostró pilas de cisternas aplanadas con dilataciones laterales (figura 27 a y b); en el grupo tratado con alcohol al 5% el organelo fue de menor tamaño y poco desarrollo sacular a diferencia de los controles (Fig. 27 c).

3.9.1.1.3 Retículo endoplásmico rugoso

El retículo endoplásmico rugoso en los grupos control absoluto y el grupo control isocalórico presentó abundantes cisternas paralelas bien desarrolladas, tachonadas en su exterior de cuerpos electrodensos o ribosomas (figura 27 a y b). Este organelo en el grupo tratado con alcohol al 5%, presentó escasas cisternas con pocos ribosomas (Fig.27 c).

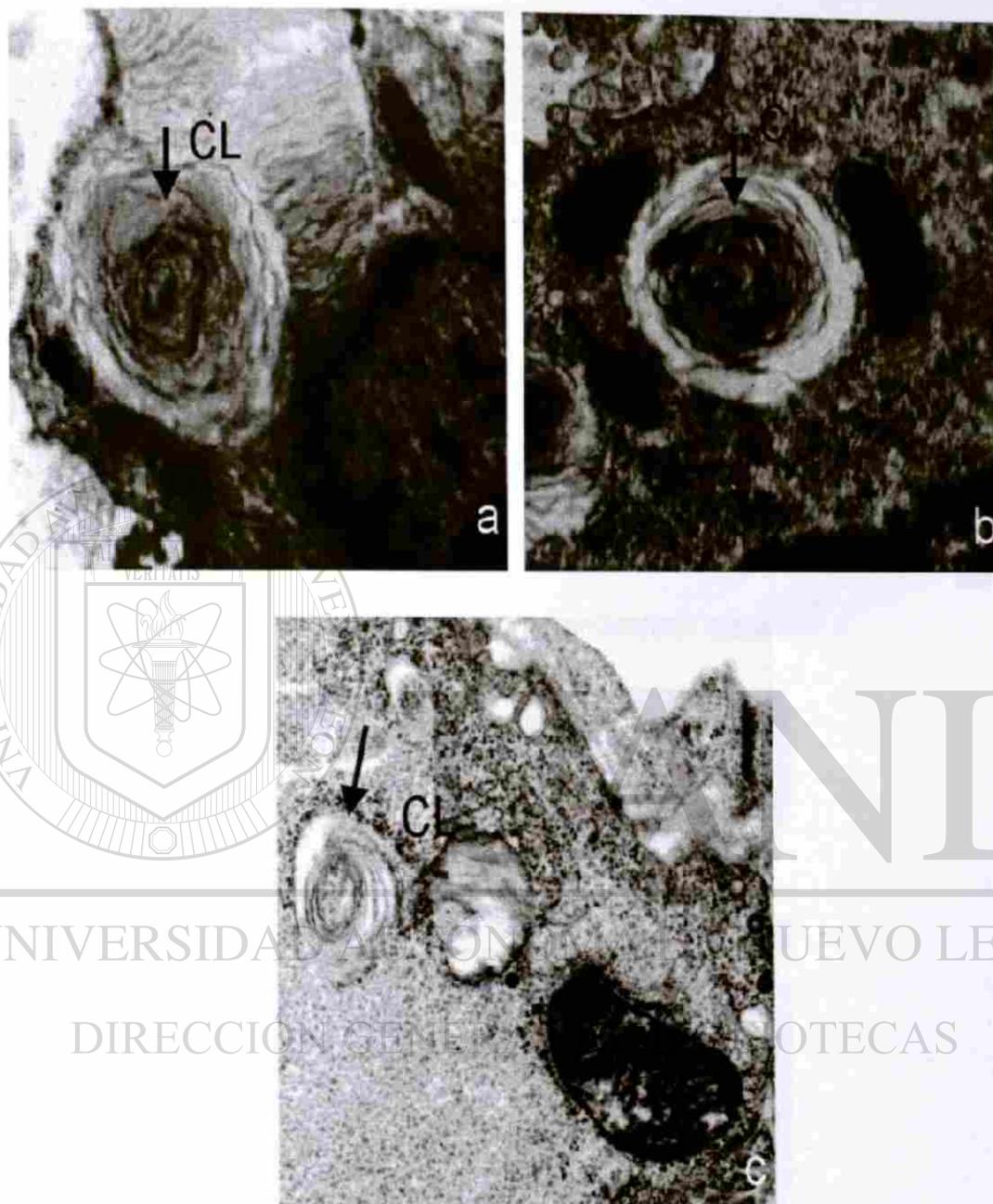


Figura 26. Micrografías electrónicas de transmisión de neumocitos II de los: a) Grupos control; b) Grupos control isocalóricos y c) Grupos con dieta líquida de alcohol al 5%, donde se observaron cuerpos lamelares marcados con CL a 12,000x.

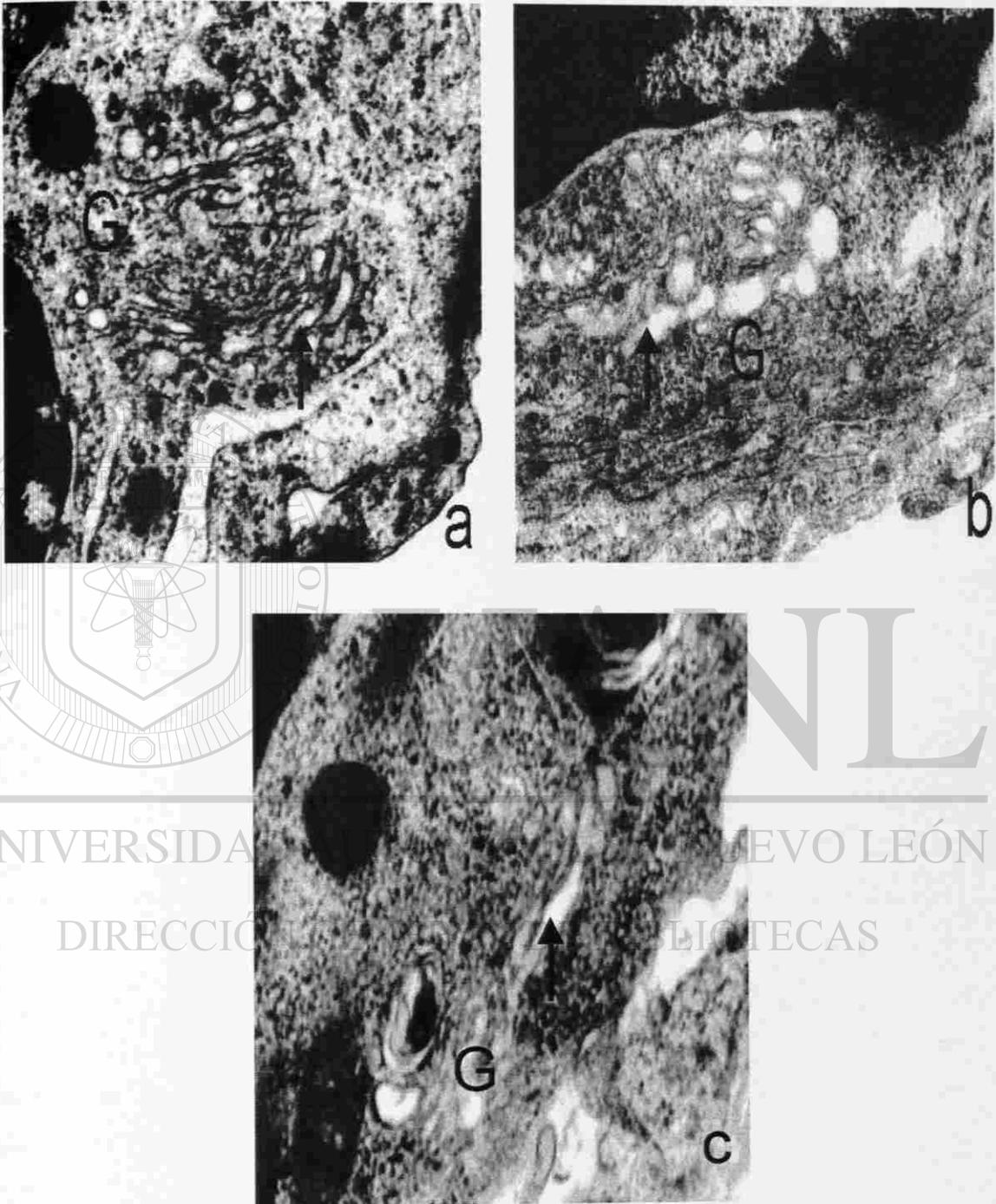


Figura 27. Micrografías electrónicas de transmisión de neumocitos tipo II en los: a) Grupos control; b) Grupos control isocalórico y c) Grupo con dieta líquida de alcohol al 5% donde se observó el Aparato de Golgi disminuido en la cantidad de cisternas en este grupo (marcado con la letra G) las cisternas fueron marcadas con una flecha 12,000x.

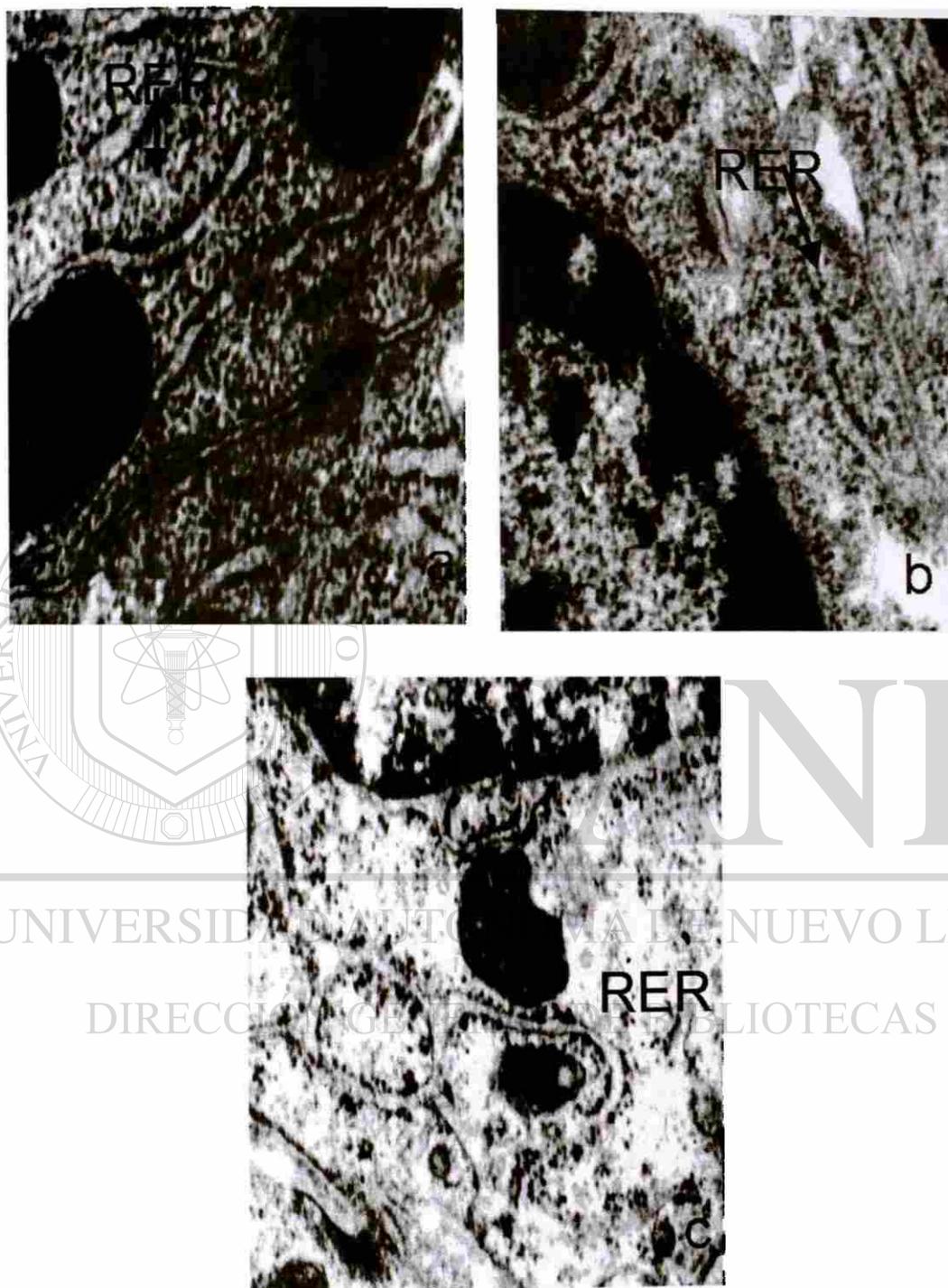
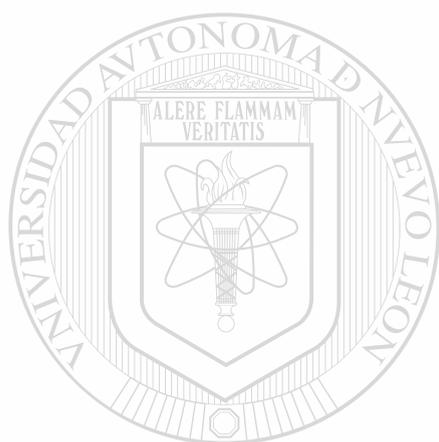


Figura 28. Micrografías electrónicas de transmisión de los neumocitos II en los: a) Grupos control; b) Grupos control isocalórico y c) Grupos con dieta líquida de alcohol al 5% donde se observó el retículo endoplásmico rugoso marcado como RER y con una flecha las cisternas 12,000x.

3.9.1.1.4 Mitocondrias

En el grupo control absoluto e isocalórico se observó las mitocondrias con crestas abundantes, gruesas y bien desarrolladas (figura 29 a y b), en el grupo de alcohol las mitocondrias en general fueron de menor tamaño (Fig. 29 c).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

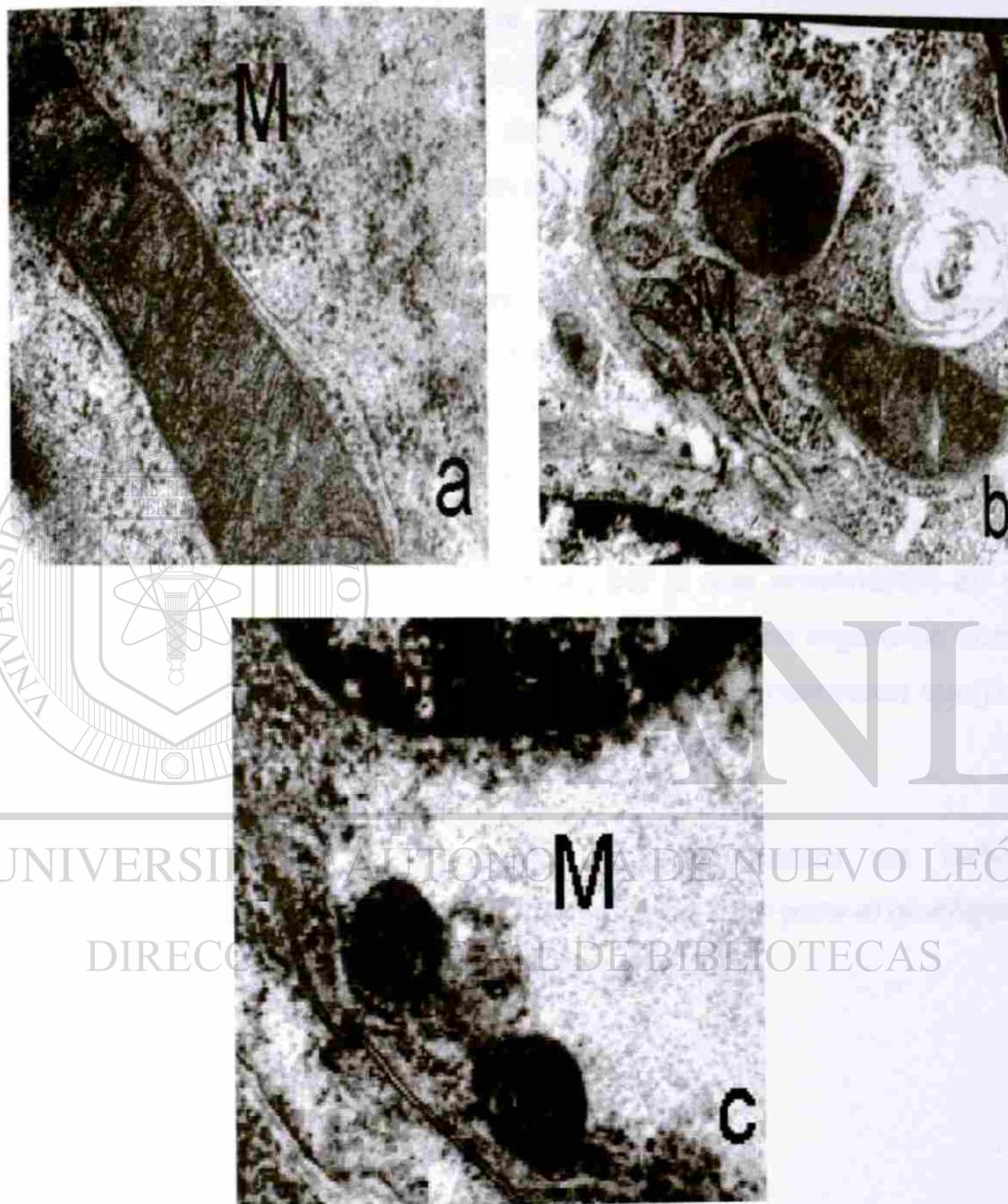


Figura 29. Micrografías electrónicas de transmisión de neumocitos II: a) Grupos control; b) Grupos control isocalórico y c) Grupos con dieta líquida de alcohol al 5%, donde se observaron las mitocondrias (M) 12,000X.

3.9.2 Células Claras de los alvéolos

En la pared alveolar de los tres grupos estudiados, se observaron las células claras de los alvéolos descritas previamente a microscopía de luz, estas células se localizaron tanto en los alvéolos como en los tubos epiteliales.

En sus características ultraestructurales al parecer corresponden a neumocitos II en proceso de maduración, ya que son células poliédricas o cilíndricas con núcleo rechazado al tercio inferior, donde se observaron grandes zonas poco densas que ocupan la mayor parte de su citoplasma, que indicó los sitios donde se localizaba el glucógeno, por lo que presentaron en su citoplasma de aspecto electrolúcido con escasos organelos como mitocondrias y RER, en estas células no se observaron cuerpos lamelares (Fig. 30).

La naturaleza del contenido citoplasmático se definió claramente con la técnica histoquímica de PAS para el glucógeno mostrado previamente, que resultó positiva.

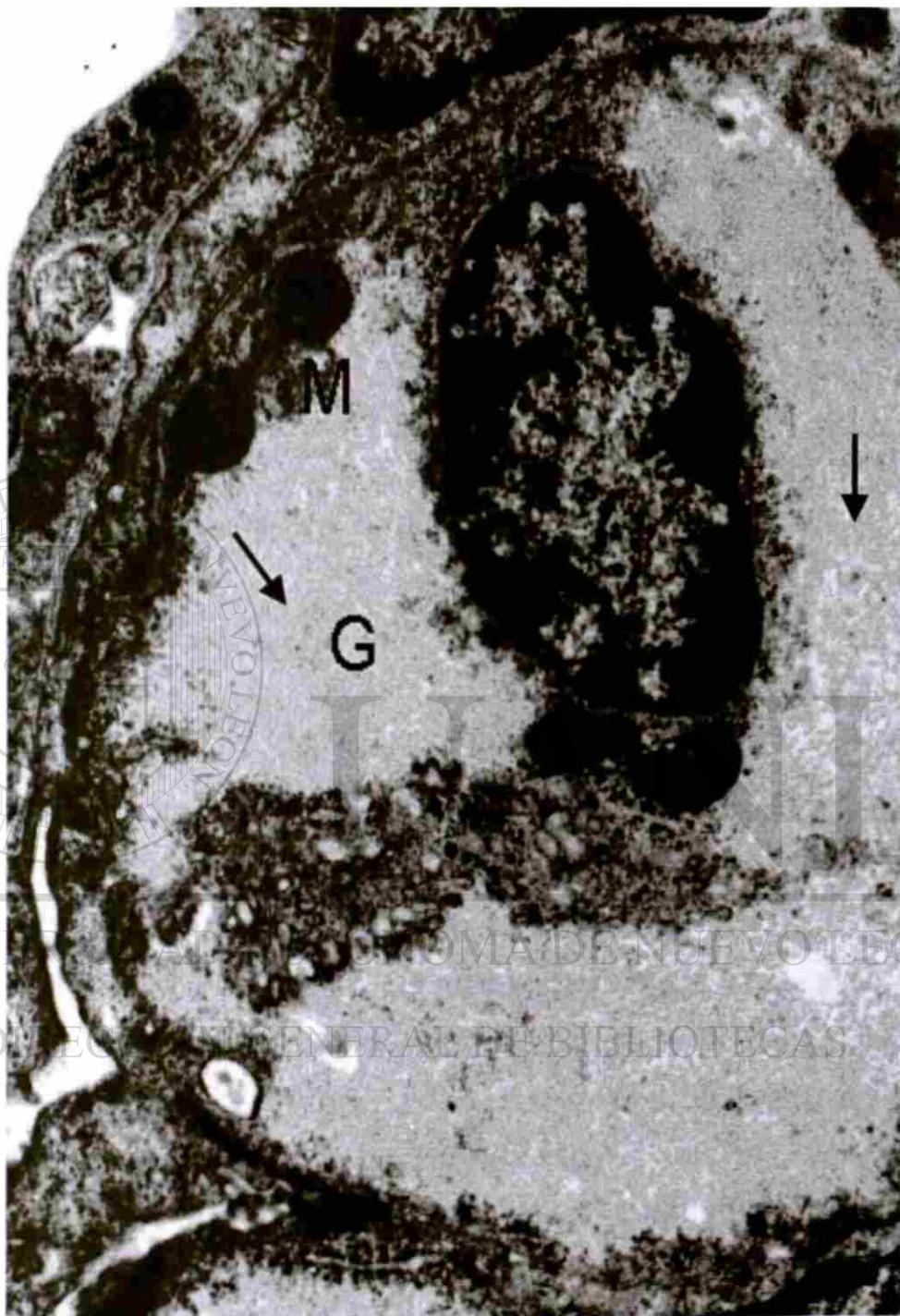


Figura 30 Micrografía electrónica de transmisión donde se observó una de las Células Claras de los Alvéolos. Las zonas del citoplasma menos densas corresponden al sitio donde se depositaba el glucógeno G (se indica con flechas) 7,400x.

3.9.3 Células Intersticiales

El intersticio de los tabiques alveolares de los grupos controles y control isocalórico se observó a presencia de CI que mostraron características de células de tipo fibroblasto con depósitos escasos de material osmiofílico de naturaleza lipídica, (figura 31 a y b). Los hallazgos más relevantes fueron en el grupo tratado con alcohol, donde las células intersticiales presentaron abundantes depósitos de un material osmiofílico de naturaleza lipídica, desprovisto de membrana, por lo que pudieron ser reconocidas como lipofibroblastos (Fig. 31 c).

3.9.4 Tubos epiteliales

En los tubos epiteliales de los grupos control y control isocalórico se encontró que las células de citoplasma claro similares a las CCA fueron escasas y estaban mezcladas con los neumocitos II, ellas presentaron abundantes figuras de mielina que se liberaron hacia a luz del tubo epitelial figura 32 a y b. En la ultraestructura de los tubos epiteliales del grupo de dieta líquida de alcohol 5%, se observó que estaban revestidos casi en su totalidad por células con abundante citoplasma claro, escasos organelos y no presentaron cuerpos lamelares, por lo que son muy similares a las CCA, previamente descritas, al parecer estas células son neumocitos II inmaduros (Fig. 32 c).

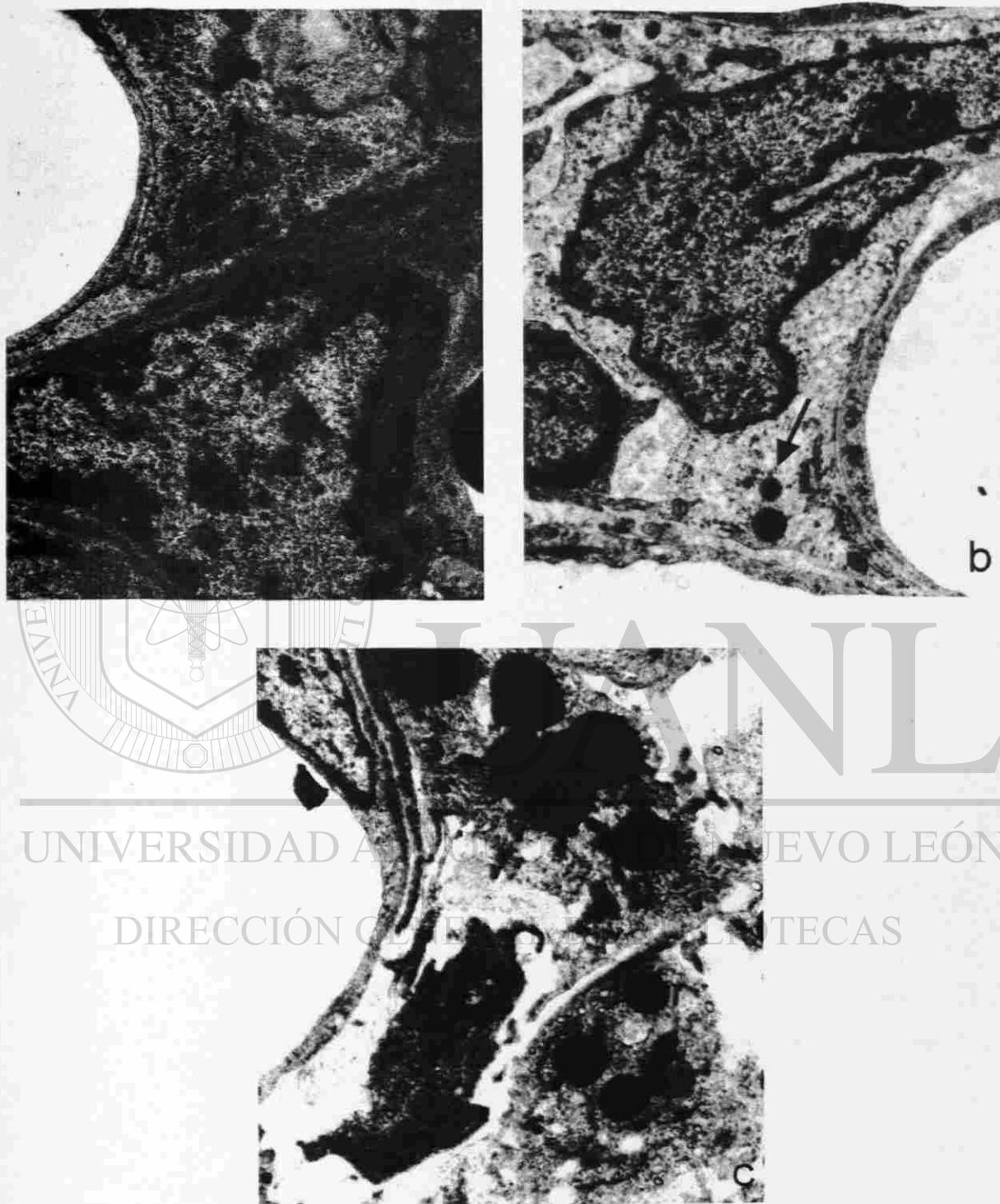


Figura 31. Micrografías electrónicas de transmisión, donde se observaron células intersticiales que correspondieron a lipofibroblastos: a) Grupo control; b) Grupo control isocalórico y c) Grupo tratado con alcohol al 5%. Los depósitos osmiofilicos se marcaron con flechas 4,000x.

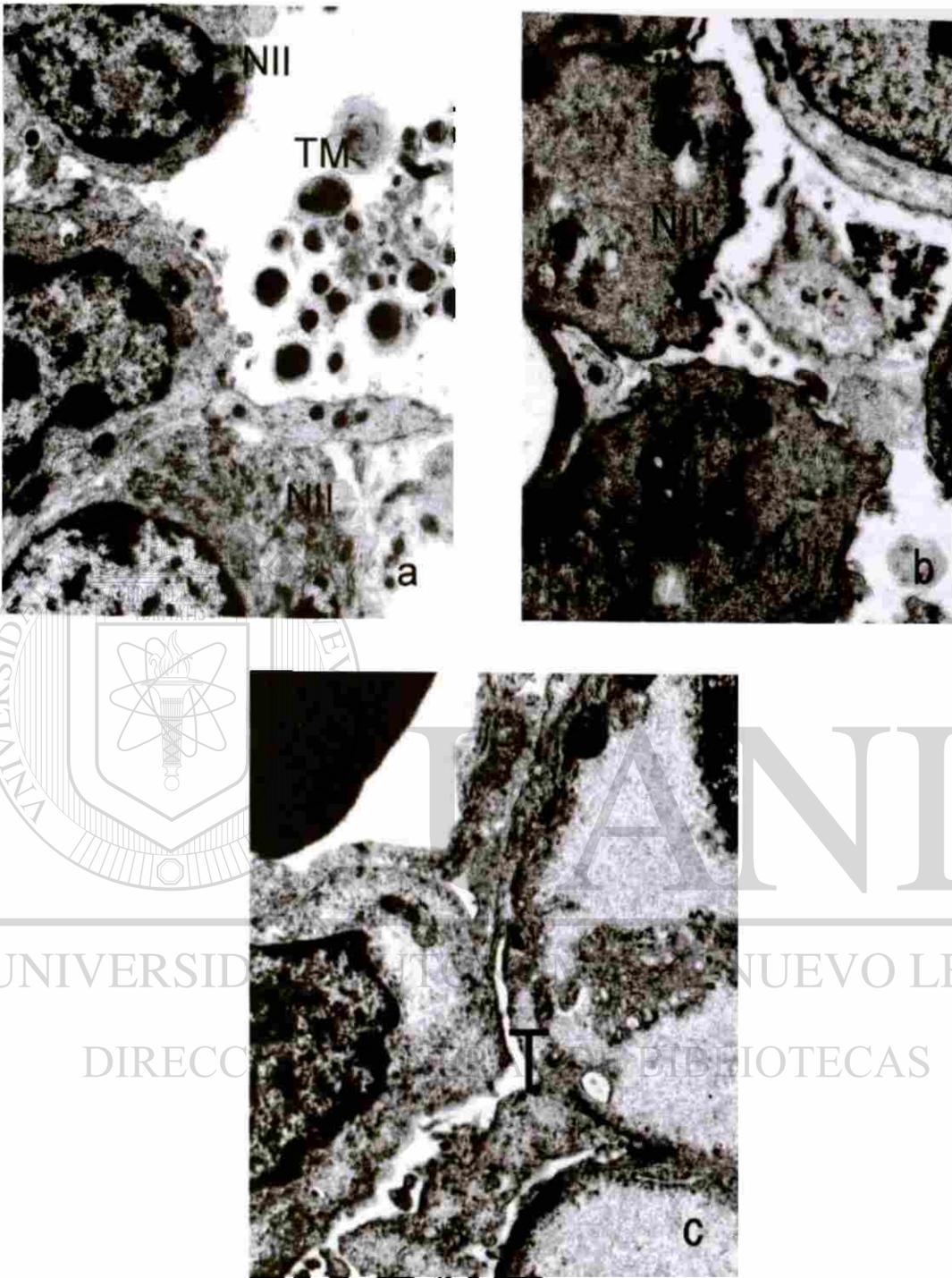


Figura 32 Micrografías electrónicas de transmisión, de tubos epiteliales marcados con una T, donde se observó en a) y b) neumocitos II (NII) cuerpos lamelares (CL) y figuras de mielina (TM) en la luz del tubo y en la c) se observó que los tubos epiteliales en el grupo tratado con alcohol al 5% presentaron abundantes células claras de los alvéolos (CCA) marcadas con flechas 4,400x.

CAPITULO CUATRO

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten aceptar la hipótesis propuesta, ya que se lograron identificar, los cambios en las características de las células del pulmón evaluadas por histología, histoquímica, morfometría y ultraestructura utilizando la dosis de alcohol al 5%.

La cantidad de productos por camada (10-14) fue similar en los tres grupos de estudio, dato que coincide con lo reportado en la literatura donde se observó que el alcohol no interfiere con la cantidad de producto por camada⁶⁴. Al analizar el porcentaje de productos que nacieron muertos durante el experimento, observamos que pertenecieron a los controles lo que coincide con lo reportado por Endo⁶⁵, sobre la incidencia de muertes en estos grupos, por lo que podemos interpretar los resultados de los grupos control como parte del comportamiento biológico de la especie.

La única anomalía macroscópica externa que observamos fue ano pequeño, en un producto del grupo de dieta líquida de alcohol al 5%, por lo que el porcentaje de malformaciones del experimento fue de 0.37% y concuerda con los resultados de Weinberg 1985 quien reportó que en un solo producto del grupo de dieta de alcohol al 5.5% encontró atresia del canal anal, que correspondió al 0.45% de malformaciones del experimento. El defecto en la región anogenital que observamos en el producto del grupo tratado con alcohol, nos permite confirmar que aun a dosis bajas, el alcohol podría causar efectos teratogénicos.

La cuantificación de los niveles de alcohol en sangre permitió asegurar que los productos estuvieron expuestos al alcohol durante toda la gestación y que los cambios observados se relacionan con la presencia de dicha sustancia. Las concentraciones en sangre se elevaron paulatinamente durante la gestación, lo que coincide con los reportes Allan 1997.

El hecho de que no observamos diferencias en los parámetros de peso total de los productos y la longitud craneocaudal en los grupos, puede ser debido a que las dietas que se utilizaron fueron enriquecidas en proteínas para aportar los requerimientos extra que son necesarios para la gestación y la lactancia coincidiendo con los trabajos de William 1989, que indican que al utilizar dietas enriquecidas con proteínas se protege a los productos de la disminución del peso total y talla ocasionados por el efecto del alcohol.

La disminución de los valores del peso húmedo del pulmón del grupo tratado con alcohol coincide con lo reportado por Inselman 1985, confirmando que el pulmón es un órgano particularmente susceptible al efecto de alcohol

Con nuestros resultados se puede asegurar que a dosis menores, a las reportadas en otros estudios, el peso húmedo del pulmón, es blanco para el efecto del alcohol.

La histología de los cortes de congelación con la falta de expansión de los espacios aéreos y la compactación en general de los tabiques nos permiten afirmar que aun a dosis menores de alcohol a las reportadas por Zagorul'ko 1990 se presenta la disminución del desarrollo alveolar.

Los resultados positivos con la técnica histoquímica de PAS que evidencian los depósitos de glucógeno en el grupo tratado con alcohol aportaron el primer indicio de retardo en la maduración celular, ya que esta reacción a la técnica no debe observarse cuando las células están maduras, como se demostró en los grupos control y control isocalórico. En el contexto de la maduración celular, el glucógeno disminuye paulatinamente al aportar la energía para el ensamble de todos los organelos, en particular los cuerpos lamelares de los neumocitos tipo II durante su maduración Williams 1993 y Strang 1977.

Los resultados positivos para la técnica histoquímica del rojo Oleoso fue el segundo parámetro para evidenciar el retraso de

la citodiferenciación de los lipofibroblastos, ya que esta reacción nos permitió demostrar, sin lugar a duda la naturaleza lípida de las inclusiones localizadas en los tabiques interalveolares. En las células en desarrollo los lípidos neutros son materiales de reserva que sirven como fuente de energía para los procesos de diferenciación terminal (Lan 1984 y Torday 1984).

Los resultados obtenidos con ambas técnicas histoquímicas, nos indican retardo en la maduración y citodiferenciación por efecto del alcohol al 5%.

Es importante mencionar que las características morfológicas de los neumocitos I no se vieron modificadas en el estudio de microscopía de luz en ninguno de los grupos. En particular en el grupo tratado con alcohol al 5%, este no ocasionó cambios en la morfología de las células posiblemente debido a que los neumocitos I no presentan mitosis, ya que se diferencian de una población de neumocitos II maduros aproximadamente el día 19 de la gestación, si llega a dañarse por efecto de algún tóxico como lo reporta Kauffman 1980, podrían ser regenerados por los neumocitos II como un mecanismo que intenta reparar el daño.

Las modificaciones ocasionadas por el alcohol al 5% no ocurrieron en todas las células, a pesar de que estuvieron expuestas de igual forma durante toda la gestación al alcohol; observamos que se afectan más algunos neumocitos II de la

zona periférica del pulmón. La maduración del pulmón ocurre del centro hacia fuera y esto puede estar relacionado con las observaciones. Por lo que se propone que estas células presentan grados de susceptibilidad al efecto tóxico del alcohol, manifestado como diversos grados de respuesta posiblemente debido a la baja dosis de alcohol que utilizamos.

Otra explicación del daño selectivo de los neumocitos II, puede considerarse si analizamos los trabajos de Kauffman 1980, quién realizó estudios de cinética de poblaciones celulares y reporta que, un porcentaje de neumocitos II maduros permanecieron en fase G_0 pudiendo reingresar al ciclo celular, dividirse y adquirir nuevas propiedades de resistencia a diversos tóxicos Mikami 1997 y Taraschi 1985.

En los cortes semifinos de los grupos control y control isocálorico se observaron escasas CCA, al parecer éstas son células que coinciden por sus características morfológicas con las células inmaduras descritas por Ten Have 1981, están mezcladas entre los neumocitos I y II maduros. La abundancia de estas células, en el grupo tratado con alcohol al 5% parece corresponder a neumocitos II en proceso de maduración terminal con la persistencia del glucógeno. Estos resultados nos permiten interpretar que el alcohol al 5% llega a retrasar la maduración terminal de las CCA hacia neumocito II maduro.

El alcohol al 5% claramente ocasionó el retraso en la utilización de los lípidos en las células intersticiales de los

tabiques alveolares, con lo que se demostró el retraso en la citodiferenciación del lipofibroblasto a fibroblasto ya que al momento del nacimiento estas células no deben encontrarse en el intersticio Torday 1995 y McGowan 1997.

Por lo que los datos morfológicos indicaron que el alcohol al 5% ocasionó en los Nil, como en las CCA, el retraso de procesos necesarios para su maduración final.

Las diferencias observadas en el análisis morfométrico en la cantidad de perfiles de neumocitos tipo II en la región central del pulmón en los grupos, no fueron estadísticamente significativas y concuerda con el comportamiento normal de esta zona cuyo desarrollo centrífugo es reportado por Burri 1992. Aunque no encontramos reportes de estudios con las condiciones que utilizamos en este trabajo, donde se realicen análisis morfométricos de ambas zonas del pulmón para poder contrastar nuestros resultados, consideramos que el aumento en los perfiles de las células con características inmaduras de acuerdo a los trabajos de Bertalanffy 1999, como son las células claras de los alvéolos e intersticiales representan una clara evidencia de inmadurez celular. Estos hallazgos encontrados solamente en el grupo tratado con alcohol al 5% sugieren el efecto tóxico del alcohol en la maduración y citodiferenciación celular.

La alteración más importante del grupo tratado con alcohol al 5% se observó en la zona periférica, donde la marcada

disminución de los neumocitos II maduros es compensada por un aumento en las células claras de los alvéolos, que posiblemente correspondan a células que van a diferenciarse a neumocitos II maduros. Los resultados morfométricos demuestran que el retardo en la maduración de los neumocitos II por efecto del alcohol al 5% es más evidente en la zona periférica del pulmón.

En el grupo tratado con alcohol al 5% se observó que en la zona periférica del pulmón existía un aumento significativo de las células intersticiales, las cuales por su morfología corresponden a lipofibroblastos. Estas células casi no deben de observarse al nacimiento en la rata a los 21 o 22 días de gestación, debido a que pierden paulatinamente los lípidos Nuñez 1995. La abundancia de los perfiles de estas células marca el retraso en la citodiferenciación ocasionada por el alcohol.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Solo el grupo tratado con alcohol al 5% presentó aumento de las estructuras tubulares revestidas de células claras de los alvéolos en la zona periférica del pulmón, que indica retraso en el proceso de alveolización y concuerda con los trabajos de Singletary 1992, quién utilizando el índice de marcaje radioactivo reportó aumento de los tubos epiteliales y retraso en la alveolización con dosis de alcohol al 3% en la glándula mamaria durante el último período de gestación.

El aumento en el número de los tubos epiteliales no llegó a ocasionar signos respiratorios, posiblemente porque los alvéolos existentes mantienen la funcionalidad del pulmón. La maduración final de estos tubos posiblemente se realice por el proceso habitual de alveolización en el período postnatal como lo explica Burri 1992.

No podemos asegurar que esta dosis de alcohol no fue suficiente para producir signos de insuficiencia respiratoria en las ratas recién nacidas como (cianosis, tiros intercostales, aleteo nasal etc.) ya que no se investigaron éstos eventos debido a que inmediatamente después de nacer se anestesiaron con éter y se sacrificaron. El monitoreo de estos datos nos podría ayudar a explicar porque a bajas dosis de alcohol, como la del 5% o menores para ocasionar SAF, no se acompañan de signos clínicos de daño respiratorio. De tal manera que si conserva una proporción de células que puedan ser resistentes a los tóxicos como lo reportó Kaufman 1980, posiblemente estas le permitan al pulmón mantener su funcionalidad.

Esta dosis de alcohol fue suficiente para ocasionar alteraciones en la maduración y en la citodiferenciación del pulmón, esta claro que existen suficientes células neumocitos II maduras en la zona central del pulmón para compensar el retardo en la maduración de algunas células de la zona periférica. Por lo que las diferencias que observamos en la morfometría, sustenta los resultados morfológicos y podemos

interpretarlos como un esfuerzo del pulmón para ser funcional al momento del nacimiento.

Si bien no realizamos ningún tipo de marcaje molecular para evidenciar la ontogenia del neumocito II, los hallazgos de las características ultraestructurales en todos los grupos, nos mostraron que los neumocitos II, presentan diferentes estadios de maduración, que en el grupo tratado con alcohol al 5% se ve particularmente retrasada.

Las diferencias morfológicas en los resultados ultraestructurales sugieren la existencia de subpoblaciones de neumocitos II, que podría apoyarse con los hallazgos de Preers 1990, quien identificó con estudios bioquímicos dos poblaciones de neumocitos tipo II fisiológicamente diferentes en pulmón de rata.

La características ultraestructurales de los neumocitos II en porceso de maduración fue en grados variables, y son evidenciados por un citoplasma con apariencia clara, el cual indica los sitios donde se acumuló el glucógeno en las células.

La naturaleza de estas inclusiones citoplasmáticas había sido determinada previamente con la técnica histoquímica de PAS.

En el resto del citoplasma se observó el pobre desarrollo de los organelos. El aumento de las CCA con estas características

permite asegurar que el alcohol al 5% ocasiona retardo en la maduración de éstas células hacia NII.

La presencia de las abundantes CCA corresponden a células en un proceso muy temprano de maduración hacia Neumocito II

El alcohol a una dosis de 5% provocó el retardo de la utilización del glucógeno por las células CCA, y en algunos neumocitos II aunque no alteró la morfología de los organelos, sí ocasionó un pobre desarrollo de los cuerpos lamelares, el aparato de Golgi, RER y las mitocondrias; no alteró la morfología de los organelos. Estos resultados difieren a los reportados por otros autores como Sylslak 1994, quién encontró alargamiento en las mitocondrias de los miocitos cardiacos de rata adulta tratada con una dosis 5.5% de alcohol en dieta líquida. Ruela 1994, reportó aumento en el volumen del aparato de Golgi y retículo endoplásmico rugoso de las

neuronas de los núcleos supraópticos utilizando una dieta líquida. La discrepancia con nuestros resultados, se puede explicar considerando que utilizamos una dieta líquida de alcohol enriquecida con proteínas, que permite observar claramente el efecto del alcohol sin la interferencia que puede ocasionar una dieta no suplementada como indica William 1989 ya que si bien los organelos fueron poco desarrollados, su morfología coincide con las características que presentan los organelos de células inmaduras, Las discrepancias podrían obedecer también, al hecho de que son tipos celulares diferentes.

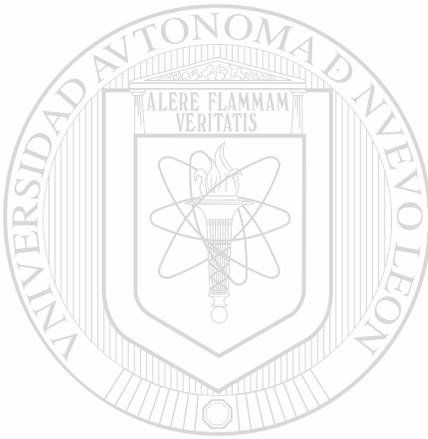
El retraso en la citodiferenciación por efecto del alcohol al 5% se observó en las células intersticiales, ya que ultraestructuralmente se pueden identificar como lipofibroblastos, la naturaleza del material osmiofílico de estas células, había sido previamente demostrado con la técnica histoquímica del rojo oleoso. La presencia de estas células se puede explicar con base a los trabajos de Torday 1995, quien reporta que estos lípidos sirven de materia prima de reserva, para que por contiguidad al neumocito II, éste los capta y pueda sintetizar eficientemente el surfactante, en un fenómeno de regulación hormonal que permite la maduración pulmonar, por lo que para el día 21 o 22 días de la gestación los lipofibroblastos no deben encontrarse en el intersticio.

Es importante enfatizar que la presencia de los lipofibroblastos del tabique interalveolar evidenciados por la técnica histoquímica en el modelo de dieta líquida con alcohol al 5%, es un dato que no se ha encontrado hasta este momento en la literatura.

El evidente aumento de los tubos revestidos de epitelio en la periferia del pulmón, concuerda con los trabajos de Villaró 1989, quien reportó el aumento de los tubos epiteliales y disminución de los alvéolos mamarios en ratas intoxicadas con alcohol durante la gestación ya que a pesar de no ser el mismo tejido, puede ser comparable a nuestros resultados, si consideramos que a pesar de ser un tejido adulto, el epitelio mamario

presentó los procesos de proliferación y diferenciación que por efecto del alcohol se encontraron retardados.

Por lo tanto la dosis de alcohol al 5% es suficiente para retrasar el proceso de la alveolización en la periferia del pulmón.



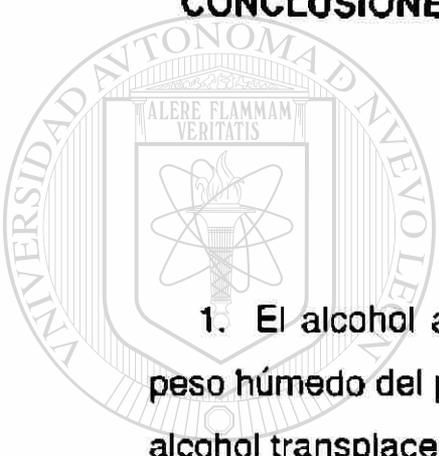
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO CINCO

CONCLUSIONES, PERSPECTIVAS Y CONTRIBUCIONES

5.1 Conclusiones



1. El alcohol a una dosis de 5% ocasiona disminución del peso húmedo del pulmón en ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario durante toda la gestación .

2. La dieta líquida de alcohol al 5%, produce inmadurez de los neumocitos II ocasionando que permanezcan como las CCA, células con abundantes depósitos de glucógeno en el citoplasma evidenciados por la técnica PAS en los pulmones de ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario durante toda la gestación .

3. Por efecto del alcohol al 5% se produce retardo en la citodiferenciación de los lipofibroblastos a fibroblastos, demostrado por la naturaleza lipídica de los depósitos positivos

al colorante rojo oleoso y confirmado ultraestructuralmente en los pulmones de ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario durante toda la gestación .

4. El alcohol al 5% ocasiona retardo en la alveolización del pulmón caracterizado por la presencia de los tubos epiteliales en los pulmones de ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario durante toda la gestación .

5.2 Perspectivas

Con la finalidad de complementar los resultados morfológicos y obtener mayor información del comportamiento celular bajo el efecto del alcohol a esta dosis se propone la realización de:

1. Valorar las características bioquímicas del surfactante en los grupos de alcohol a las dosis y bajo el esquema experimental estudiado en éste trabajo en comparación a los controles.

2. Cuantificar los componentes del surfactante en los grupos de alcohol a las dosis y bajo el esquema experimental estudiado en éste trabajo en comparación a los controles.

5.3 Contribuciones

1. La disminución del número de neumocitos II y la presencia de células inmaduras como las CCA fueron fuertes indicativos, suficientes para aseverar que una dieta de alcohol al 5% ocasiona retraso en el proceso de maduración del pulmón de ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario durante toda la gestación.

2. La presencia de los abundantes depósitos de lípidos en los fibroblastos evidencian el retraso en la citodiferenciación del pulmón, que se produce por efecto de la dieta de alcohol al 5% en ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario durante toda la gestación. *Esta es una aportación relevante del trabajo ya que éste dato no se ha reportado en la literatura.*

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3. El aumento en el número de los tubos epiteliales evidencia la disminución de la maduración pulmonar que se produce por efecto de la dieta de alcohol al 5% en ratas recién nacidas que recibieron alcohol transplacentario durante toda la gestación.

BIBLIOGRAFIA

1. Greke P., Hapke U., Rumpf H. Alcohol related diseases in general hospital patients. *Alcohol & Alcoholism*, Vol. 32, No.2, pp.179-184;1997.
2. Anderasson S., Brandt L. Mortality and morbidity related to alcohol. *Alcohol & Alcoholism*, Vol. 32, No.2, pp.173-178;1997.
3. Grant B., Pickering R. DSM-III alcohol and alcoholism. *Alcohol. Health & Res. World*, Vol. 20, No.1, pp.67-72;1996.
4. Pickering R. DSM-IV alcohol and drug use disorders. *Alcohol Health & Res. World*, No.1, pp.1-172;1999.
5. Teschke R., Matsuazaki S., Ohrishi K. Metabolism of alcohol at high concentrations: role and biochemical nature of the hepatic microsomal ethanol oxidizing system. *Ann. Exp. Med. Biol.* Vol. 85, pp. 257-270;1997.
6. Wall T., Garcia-Andrade C., Thomason H., Carr L., Ehlers C. Alcohol dehydrogenase polymorphism in native americans identification of the ADH2*3 allele. *Alcohol & Alcoholism*, Vol. 32, No.2 pp.129-132;1997.
7. Gary P., Carlson M., Olson C. Comparison of the metabolism of alcohol by rat hepatic and pulmonary alcohol dehydrogenase. *Biochem. Mol. Biol. Inter.* Vol. 37, No.1 pp.65-71;1995.
8. Zearilli D., Amet Y., Beauge F., Volant H., Floch H., Berthou F., Menez F. Cytochrome p-450 2e1 in rat liver, kidney and lung microsomes after chronic administration of ethanol either orally or by inhalation. *Alcohol & Alcoholism*. Vol. 30, No.3, pp.357-365;1995.

9. Breinsten J. The role of lung in the metabolism of ethanol. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* Vol. 38, No.1, pp.43-56;1982.
10. Manautou J.E., Carlson G.P. Ethanol-induced fatty acid ethyl ester formation in vivo and vitro in rat lung. *Toxicol.* Vol. 70, No.3, pp. 303-312;1991.
11. Carlson G., Chaney A., Feng J. Comparison of the induction of rat glutathion-s-transferase and fatty acid ethyl ester synthase activities. *Toxicol.* Vol. 96, pp.127-132;1995.
12. Warner H.R., Rosett H.L. The effects of drinking on offspring. *J. Stud. on Alcohol*, Vol. 36. No.11, pp.1395-1420;1975.
13. Clarren S.K., Ellsworth C., Alvord S., Sumi Ma., Streissguth A., Smith W.D. Malformations related to prenatal exposure to ethanol. *J. Pediatr.* Vol. 92. No.1, pp64-67;1978.
14. Kolls J., Xie J. Lei D., Greenberg S., Summer W., Nelson S.A., Anderasson S. Differential effects of in vivo ethanol on LPS-induced TNF and nitric oxide production in the lung. *Amer. J. Physi.* Vol. 268. No. 12 pp.L991-L998;1995.
15. Hyung R., Larry C., Seeling L. Preliminary study of how consumption during pregnancy affects immune components in breast milk and blood of postpartum women. *Alcohol & Alcoholism.* Vol. 32, No.5 pp.581-589;1997.
16. Gyongyi S. Alcohol's contribution to compromised immunity. *Alcohol Health & Rese. World*, Vol. 21, No.1, pp.30-41;1997.
17. Hanson J.W., Streissguth P., Smith D.W. The effect of moderate alcohol consumption during pregnancy on fetal growth and morphogenesis. *J. Pediatr.*, Vol. 92, No.3, pp.455-460;1978.

18. Hanson J.M., Jones K.L., Smith D.W. Fetal alcohol syndrome. experience with 41 patients. JAMA, Vol. 235, No.14, pp.1458-1460;1976.
19. Kaufman M.H. The teratogenic effects of alcohol following exposure during pregnancy, and its influence on chromosome constitution of the pre-ovulatory egg. Alcohol & Alcoholism, Vol. 32, No. 2 pp.113-128;1997.
20. Streissguth A.P., Landersman-Dwyer S., Martin J.C., Smith D.W. Teratogenic effects of alcohol in humans and laboratory animals. Scien. No. 209, pp.353-361;1980.
21. Miller R.R., Uglolini A.M., Nothdorf K.J, Spidle D.L. Ethanol alters brain phospholipid levels witch correlate with altered brain morphology. Comp Biochemist Physiology & Biochem. Mol. Biol., Vol. 116, No.4, pp.407-417;1997.
22. Jones K.L. Smith D.W. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. Lancet, pp. 999-1001;1973.
23. Clarren S.K., Smith W.D. The fetal alcohol syndrome . N. Engl. J. Med., Vol. 298, No.19, pp. 1063-1067;1978.
24. Streissguth A.P., Aase J.M. Clarren S., Randels S., LaDueRobin. A., Smith D.F. Fetal Alcohol Syndrome in Adolescents and Adults. JAMA, 256, pp.1961-1067;1991.
25. Streissguth A.P., Barr H.M., Kogan J. Bokstein F.L. Understanding the occurrence of secondary disabilities in clients with fetal alcohol syndrome and fetal alcohol Final Report Center for Disease Control and Prevention CDC August. 1996, Seattle University of Washington Fetal Alcohol and Drug Unit Tech. Rep., pp 96-106;1996.
26. Abel E.L. Fetal Alcohol Syndrome. Behavioral. Teratol. Physiol. Bull., Vol.87, No.1, pp. 29-50;1980.
27. Sulik K.K., Johnston M.C., Webb M.A. Fetal Alcohol Syndrome: embriogenesis in a mouse model. Scien. Vol.214, pp. 936-938;1981.

28. Burri P.H., Dbaly J., Weibel E.R. Postnatal growth of the rat lung morphology. *Anat. Rec.*, Vol. 180, pp. 711-739;1974.
29. Jeffery P. K. Morphologic features of airway surface epithelial cell and glands *Am. Rev. Respir. Dis*, Vol. 128, pp. S14-S20;1983.
30. Amy W.M.R., Browse D., Burri P.H., Haines J., Thornback W.M. Postnatal growth of the mouse lung. *Anat. Rec.* Vol.124, pp.131-151;1977.
31. Meyeric B., Reid L. The alveolar wall. *Brit. J. Dis. Chest.*, Vol. 64, pp.121-140;1970.
32. Breezer R. Truk M. Cellular structure function and organization in the lower respiratory tract. *Environm. Health Persp.* Vol. 55, pp 3-24;1984
33. Kresch M.J., Lima D.M., Hsienwie Lu. Developmental regulation of phospholipid secretion by fetal type II pneumocytes. *Biochem. Biophys. Acta*, Vol.1299, pp.39-46;1996.
34. Slomiany A., Grabska M., Piotrowski E., Sengupta S.H., Maasanori M. Intracellular processes associated with vesicular transport from endoplasmic reticulum to Golgi and exocytosis ethanol induced changes in membrane biogenesis. *Arch. Biochem. Biophys.*, Vol. 310 No.1, pp. 247-255;1994.
35. Gomori T., Kimura A., Higashi K., Tsuchiya H., Sasa S., Kishi K. Structural Analysis of fetal rat lung development. *Acta Anat.* Vol. 141, pp. 294-301;1991.
36. Rasmussen B.B., Christensen N. Teratogenic effect of maternal alcohol consumption on mouse fetus. *Acta Phatol. Microbiol. Scand.*, Vol. 88, pp. 285-289;1980.
37. Inselman L.S., Fisher S.E., Spencer H. Effect of intrauterine ethanol exposure on fetal lung growth. *Ped. Res.*, Vol. 19, No.1, pp.12-14;1985.

38. Synder A.K., Singh S.P., Pullen G.L. Effects on maternal ethanol ingestion on the uptake of alpha-aminoisobutyric acid by fetal rat liver, lung and brain. *Biol. Neonate.*, Vol. 56, pp. 277-282;1989.
39. Zagorul'ko A.K., Brinkum A.A., Matvienko P.P., The surface activity of pulmonary surfactant in experimental acute and chronic ethanol poisoning. *Varch Delo, USSR.* Vol. 9, pp.48-49;1989.
40. Zagorul'ko A.K., Fisik E.E., Tikus E. Effect of alcohol poisoning during pregnancy on the lung surfactant system of newborn rat. *Byull. Eksperimental'. Biol. Med.* Vol. 110, No.8, pp.142-144;1990.
41. O'Gorman S., Banning J. The lung in mouse fetal alcohol syndrome. *European. Teratol. Abstracts.* Vol. 44, No.3, pp.15-16;1991.
42. Treviño M.G. Efecto de la ingesta materna de etanol sobre la celularidad de la región alveolar del pulmón de la rata recién nacida. Tesis de Doctorado en Medicina Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey Nuevo León;1994.
43. Johnson S. Kinig R., Marmer D.J., Steele R.W. Immune deficiency in fetal alcohol syndrome. *Ped. Resh.*, Vol. 15, pp. 908-911;1981.
44. Standford J.T., Danforth J.M. Ethanol feeding inhibits proinflammatory cytokine expression from murine alveolar macrophages ex vivo. *Alcohol Clin. Exp. Resp.*, Vol. 21, No.7, pp. 1212-1217;1997.
45. Jareo P. W., Preheim L.C., Lister P. D., Gentry M.J. The effect of ethanol ingestion on killing of streptococcus pneumonia, staphylococcus epidermis by rat neutrophils. *Alcohol Alcoholism*, Vol. 30, No.3, pp. 311-318;1995.

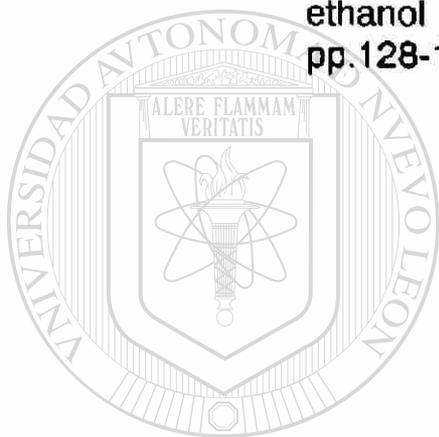
46. Saric M., Lucic-Paraic S., Horton R.M.J. Chronic nonspecific lung disease and alcohol consumption. *Environment Research*, Vol. 14, pp. 14-21;1977.
47. Wallaert B., Aerts C., Colombel J.F., Cry V. Human alveolar macrophage antibacterial activity in the alcoholic lung. *Am Rev Respire Dis*, Vol. 144, pp. 278-283;1991.
48. Lieber C.S., DeCarli L.M., Experimental methods of ethanol administration. *Hepatology*. Vol.10, No.45, pp.501-519;1989.
49. Baker DEJ: Reproduction and breeding. In: Baker H.J, Imnsey J.R., Weisbroth S.H. *The laboratory rat*. Academic Press. New York, Vol. I, pp. 12-16;1980.
50. Baker DEJ: Embriology and Teratology In: Baker H.J, Imnsey J.R., Weisbroth S.H. *The laboratory rat*. Academic Press, New York, Vol. II, pp. 76-89;1980.
51. Watanabe T., Endo A. Digit development and embryonic and weight in mice: analysis of sex related time difference and mating period-related interlitter variability. *Teratol*. Vol 38, pp 156-157;1988.
-
52. Lieber C.H.S Biochemical and molecular basis of alcohol-induced injury to liver and other tissues. *N. Engl. J. Med*. Vol.319.,No.25,pp1639-1650;1982.
53. Baker DEJ: Research Metodology In: Baker H.J, Imnsey J.R., Weisbroth S.H. *The laboratory rat*. Academic. Press. New York vol.1, pp, 16-19;1979.
54. Eipsten C, Argilés JM. The use of thiourea in determination of tissue ethanol and acetaldehyde concentrations *IRCS Med. Sci.*, No.12, pp 625-630 ;1984.
55. Dawson-Saunders B., Trapp G. R *Bioestadística Médica Manual Moderno* 2ed. Editorial Manual Moderno Mex. D.F.;1998.

56. Bancroft J.D., and Stevens A. Theory and practice of histology techniques. Edited Churchill Livingstone Edinburg London Melbourne and New York cap.3 pp.60-70;1982
57. Estrada E., Peralta L.,Rivas P. Manual de Técnicas Histológicas A.G.T. Editor S. A. Mexico D.F. cap.4, pp.73-75;1982.
58. Bancroft J.D., and Stevens A. Theory and practice of histology techniques. Ed. Churchill Livingstone Edinburg London Melbourne and New York cap.12 pp.217-225;1982
59. Ito & Karnovsky M. Formaldehyde-glutaraldehyde fixative containing trinitro compounds. J. Cell. Biol. Vol. 39, pp.168;1968.
60. Luft J., Improvemenstin epoxy resin-embedding methods. J. Biophys. Bioche. Cytol. Vol. 9, pp. 409-414;1961.
61. Trum B.F., Smuckler E.A., Benditt E.P. A method for staining epoxy sections for light microscopy. J. Ultrastruct. Res. Vol. 5, pp. 343-348;1961.
62. Vewable J.H. and Coggesall R. A Simplified lead and citrate stain for use in electron microscopy. J. Cell. Biol. Vol. 25, pp. 407-408;1958.
63. Watson M.I., Staining of tissue of sections for electron microscopy with heavy metals II. Applications of solution containing lead and barium J. Biophys. Biochem. Cytol, Vol. 4, 447 pp. 720-730;1958.
64. Abel E. L., Reddy P.P. Prenatal high saturated fat diets modifies behavioral effects of prenatal alcohol exposure in rats. Alcohol Vol.14, No.1, pp.25-29;1997.
65. Endo A., Watanabe R. Interlitter variability in fetal body weight in mouse offspring from continuous ,overnigh and short-periods matings. Teratol. No. 37, pp.63-67;1988.

66. Weinberg J. Effect of ethanol and maternal nutritional status on fetal development .Alcoholism Clinical and Experimental Research. Vol.9, No.1, pp. 49-55;1985.
67. Allan A. M. Weeber E.J., Daniel D., Cadwell S., Cadwell K.K. Effect of prenatal of ethanol exposure on Phospholipase C- β 1 AND phospholipase A2 in hipocampus and medial frontal cortex of adult rat offspring. Alcoholism Clinical and Experimental Research, Vol. 21, No.8, pp.1534-1541;1997.
68. William S., Bulloch B., Seelig L.L. A morphometric study of effect of ethanol consumption on lactating mammary glands of rats.Vol.13, No.2;1989.
69. Strang L.B. Growth and development of lung fetal and postnatal. Ann. Rev. Physical, Vol. 39, pp.253-256;1977.
70. Torday S.J. The sex difference in type II cell surfactant synthesis originaes in fibroblast in vitro. Experimental Lung Research.Vol.7, pp187-194;1984.
71. Inselman L.S., Mellins R.B. Growth and development of the lung. The Journal of Pediatrics, Vol. 98, No.1, pp.1-15;1981.
72. Williams J.B. Nature, origin and fates of membranous lamellae in the lung of the neonate rat. Tissue and Cell, Vol. 23, No.24, pp.481-493;1993.
73. Ian Y., Adamson R., King G.M. Sex differences morphology of epithelial mesenchymal interactions. United States–Canadian Division of the Inter. Academ. Pathol. Vol.50, No.4, pp.461-468;1984.
74. Kauffman S.L. Cell proliferation in the mammalian lung. Inter. Rev. Exper. Pathol. Vol. 22, pp.131-191;1980.
75. Mikami K., Haseba T., Ohno Y. Ethanol induce trasient arrest of cell division (G2 + M block): Dose effects of short –and longer term ethanol exposure on cell cycle and cell functions. Alcohol & Alcoholism, Vol. 32, No.2, pp.145-152;1997.

76. Taraschi, T. F., Rubin E. **Biology of Disease: Effect of ethanol on the chemical and structural properties of biologic membranes.** *Laboratory Investigation*, Vol.52, pp. 120-13; 1985.
77. Ten Have, Opbroek A. **The development of the lung in mammals: an analysis of concepts and finding.** *Am. J. Anat.* Vol.162, pp. 201-219;1981.
78. Torday J., Hua J., Slavin R. **Metabolism and fate of neutral lipids of fetal lung fibroblast origin.** *Biochem. Biophys. Acta*, Vol. 1254, pp.198-206;1995.
79. McGrowan S.E., Torday J.S. **The pulmonary lipofibroblast (lip interstitial cell) and its contributions to alveolar development.** *Annu. Rev Physiol.* Vol.59, pp.43-62;1997.
80. Burri P.H, Moschopoulos M. **Structural analysis of fetal rat lung development.** *Anat. Rec.* Vol. 234, PP.399-418;1992.
81. Bertalanffy F.D., Leblond C.P. **The continuous renewal of the types of alveolar cells in the lung of rat.** *Am. Assoc. Anatom. (Bertalanffy 50)* pp. 511-545;1999.
82. Nuñez J.S., Torday S.J. **The developing rat lung fibroblast and alveolar type II cell actively recruit surfactant phospholipid substrate 1,2.** *Am. Ins. Nut.(supplement)* pp.1639s-p1644s;1995.
83. Singletary W.K., McNary M.Q. **Effect moderate ethanol consumption on mammary gland structural development and synthesis in female rat.** *Alcohol* Vol.9, pp.95-101;1992.
84. Peers C. Kemp P. J. **Whole cell K⁺ currents in type pneumocytes II freshly isolated from rat lung: pharmacological evidence for two subpopulations of cell.** *Biochem. and Biophys. Acta.* No. 1052. Pp.113-118;1990.

85. Syslak P.H., Nathaniel E.J.H., Novak C. Burton L. Fetal alcohol effects on the postnatal development of rat myocardium: An ultrastructural morphometric analysis,. *Exper. Mol. Vol.60. pp. 158-172;1994*
86. Ruela C., Sousa N. Madeira M.D., Paula-Barbosa M.M. Stereological study of the ultrastructural changes induced by chronic alcohol consumption and dehydration in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamus. *J. Neurocytol. Vol.23. pp. 410-421;1994.*
87. Villaró S., Viñas O., Remesar X. Altered Ultrastructure of lactating rat mammary epithelial cell induced by chronic ethanol ingestion. *Metabolism. Clin. Exp. Res.Vol.13, pp.128-137;1989.*



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APENDICE A

TABLAS

TABLA I

Promedio de peso total de ratas recién nacidas	
Grupos	Media g \pm D. S.
Control	5.5 \pm 0.49
Control isocalórico	5.5 \pm 0.35
Alcohol al 5%	5.3 \pm 0.61

TABLA II

Promedio de longitud craneocaudal de ratas recién nacidas	
Grupos	Media mm \pm D. S.
Control	43.7 \pm 2.9
Control isocalórico	42.7 \pm 1.9
Alcohol al 5%	43.0 \pm 2.4

TABLA III

Valores promedio del número de perfiles celulares por 100 alvéolos en la zona central del pulmón de ratas recién nacidas						
	NII		CCA		CI	
	MED	\pm DS	MED	\pm DS	MED	\pm DS
Control	450	\pm 24	8	\pm 2.0	178	\pm 20
Control isocalórico	447	\pm 30	10	\pm 2.6	174	\pm 21
Alcohol 5%	406	\pm 45	65	\pm 21	316	\pm 35

TABLA IV

Valores promedio del número de perfiles celulares por 100 alvéolos en la zona periférica del pulmón de ratas recién nacidas						
	NII		CCA		CI	
	MED	± DS	MED	± DS	MED	± DS
Control	340	± 25	4	± 1	279	± 20
Control Isocalórico	352	± 29	10	± 3	315	± 18
Alcohol 5%	140	± 10	205	± 25	508	± 38

TABLA V

Valores promedio del número de perfiles de tubos en 100 alvéolos del pulmón de ratas recién nacidas				
	CENTRAL		PERIFÉRICA	
	MED		MED	± DS
Control	0		8.5	± 0.7
Control Isocalórico	0		10.8	± 1.4
Alcohol al 5%	0		44	± 1.4

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



APENDICE B

Preparación del material biológico y dietas.

Lista de material y reactivos.

Ratas *Sprague-Dawley* (Charles River Breeding Laboratories).

Jaulas de policarbonato con rejilla de acero inoxidable.

Dietas líquidas distribuidas por Bio-Serv:

a) Líquida alta en proteínas para la gestación, LD'82 con alcohol al 5%.

b) Líquida alta en proteínas para la gestación, LD'82 control isocalórico con dextrin maltosa.

Dieta con croquetas de purina Ratchow.

Tubos alimentadores graduados.

Biberones para agua.

Viruta.

Papel de estraza.

Cinta testigo.

Autoclave.

Tubos recolectores de sangre.

Jeringas.

Agujas.

Cloroformo MERCK®.

Cámaras para anestesia.

Equipo de disección.

Portaobjetos.

Cristalería para la preparación de la dieta.

Procedimiento para la preparación de las dietas.

Toda la cristalería para la preparación de las dietas, así como los recipientes para la administración fueron lavados con etanol y enjuagados en tres ocasiones con agua destilada, posteriormente se esterilizaron. Se prepararon las dietas diariamente, ya que están en polvo y se procedió a reconstituirlas con agua esterilizada.

Administración de las dietas

Se utilizaron tubos alimentadores graduados para la administración del alcohol en la dieta líquida. Esto permitió registrar el consumo diario de la dieta. En un reservorio diferente, se colocó agua y se registró de igual manera la ingesta. La dieta se cambió diariamente a una misma hora (8:30 am).

Procedimiento de toma de muestras

Se tomaron muestras de sangre periférica, por punción de la vena dorsal de la cola, de 5 ratas gestantes del grupo con dieta líquida de alcohol al 5%. Las muestras se obtuvieron a los 7, 14, 21 días de la gestación siempre a las 9:00 am, éstas se colectaron en tubos especiales, se transportaron al Departamento Farmacología de la Facultad de Medicina de la UANL donde se analizaron los niveles de alcohol en sangre por cromatografía de gases.

Método de sacrificio.

Posterior a la identificación de las ratas recién nacidas se les anestesió con éter etílico. Mediante una incisión toracoabdominal, se obtuvieron los bloques cardiopulmonares, se separó el corazón de los pulmones para registrar el peso húmedo del pulmón.

Lista de material para los estudios histoquímico, histológico morfométrico y ultraestructural

Balanza Granataria.

Hojas de bisturi.

Crióstato.

Acido Peryódico.

Reactivo de Schiff.

Hematoxilina de Harris.

Rojo Oleoso.

Cristalería para reactivos .

Carbonato de litio.

Portaobjetos.

Cubreobjetos.

Xilol.

Entellan.

Bálsamo de Canada.

Rollos fotográficos.

Fotomicroscopio Zeiss.

Aceite de inmersión.

Formaldehído.

Acido Pícrico.

Glutaraldehído.

Agua ultrapura.

Acido Cacodílico.

Tetraóxido de osmio.

Nitrato de uranilo.

Alcohol metílico.

Acetona MERCK

Estufa desparafinizadora.

Pipetas Pasteur.

Microscopio Óptico Zeiss K7.

Papel de lentes.

Balanza analítica.

Epón 812.

Cápsulas de plástico.

Medio de montaje Tissue Teck.

Gasas.

Ultramicrotomo V LKV.

Knife-Maker.

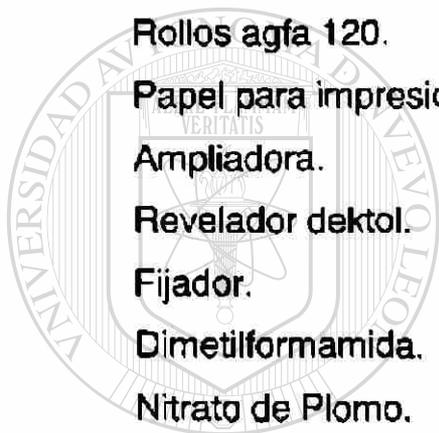
Barras de vidrio.

Cinta metálica.

Portaobjetos.

Azul de toluidina.

Platina caliente.
Diferenciador.
Rejillas de cobre.
Rejillas de níquel.
Cajas de Petri.
Papel parafilm.
Tubos Ependoff.
Agua Tridestilada .
M.E.T. Zeiss E.M. # 109.
Rollos agfa 120.
Papel para impresiones.
Ampliadora.
Revelador dektol.
Fijador.
Dimetilformamida.
Nitrato de Plomo.
Acetato de Uranilo.
Hidróxido de sodio.
Eosina.
Aceite de inmersión.
Solución Alcohol Acetona.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



APENDICE C

Técnica de Hematoxilina y Eosina para cortes de congelación

SOLUCIONES

1. Hematoxilina de Harris

Hematoxilina	1.0 g
Oxido rojo de mercurio	0.5 g
Sulfato de aluminio	20.0 g
Amonio o potasio	10.0 ml
Alcohol absoluto	10.0 ml
Agua destilada	200.0 ml

2. Eosina alcohólica

Eosina amarillenta	3.0 g
Alcohol absoluto	100.0 ml

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

PROCEDIMIENTO

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

1. Hidratar

2. Hematoxilina de Harris 1 min

3. Enjuagar

4. Eosina Alcohólica 3% 2 min

5. Deshidratar 3 min

6. Acetona 5 min

7. Xilol 5 min

Técnica del Ácido Peryódico de Schiff

SOLUCIONES

1. Solución A: Ácido Peryódico

Ácido peryódico	1 g
Agua destilada	200 ml

2. Solución B: Reactivo de Schiff

Fucshina básica	1 g
Agua destilada caliente	200 ml
Metabisulfito de potasio	2 g
Ac. clorhídrico concentrado	1 ml
Carbón activado	2 ml

NOTA.-Se filtró antes de usarse y almacenó a 4°C

PROCEDIMIENTO

Cortes por congelación:

1. Hidratar
2. Solución A 5 min
3. Reactivo de Schiff 15 min
4. Enjuagar 15 min
5. Hematoxilina de Harri's 5 min
6. Enjuagar
7. Alcohol 5 min
8. Xilol 5 min
9. Montar con bálsamo de Canadá

Técnica del rojo Oleoso.

SOLUCIONES

1. Solución A: Rojo Oleoso

R rojo Oleoso	2 g
Alcohol isopropílico	50 ml
Acetona	50 ml

2. Solución B Alcohol Isopropílico

Alcohol Isopropílico	70 ml
Agua destilada	30 ml

3. Solución C: Carbonato de Litio al 0.05%

Carbonato de Litio	0.05 g
Agua destilada	100.00 ml

PROCEDIMIENTO

- Solución B 1 min
- Solución A 5 min
- Solución B hasta que suelte el color rojo
- Lavar
- Hematoxilina de Harris 4 min
- Lavar
- Virar en la solución C 2 h
- Lavar
- Montar en glicerol-gelatina.

Técnica de inclusión en resinas epóxicas

SOLUCIONES

1. Fijador de Karnovsky-Ito

Paraformaldehído	4.0 g
Acido picrico	0.04 mg
Glutaraldehido al 25%	8.00 ml

que sé aforó a 100 ml con agua ultrapura

2. Tetraóxido de Osmio 2%

Tetraóxido de osmio	2.00 g
Agua destilada	100.00 ml

3. Buffer de cacodilatos al 0.1M ph 7.5

Acido cacodílico	0.1 g
Agua destilada	100.0 ml.

4. Nitrato de uranilo alcohólico al 1%

Nitrato de uranilo	1.00 g
Alcohol absoluto	100.00 ml

PROCEDIMIENTO

1. Solución de Karnovsky-Ito	1.00 h
2. Buffer de cacodilatos	5 min (3 veces)
3. Tetraóxido de osmio acuoso al 2%	30 min
4. Lavar con buffer de cacodilatos	5 min (3 veces)
5. Nitrato de uranilo alcohólico al 1%	30 min

6. Lavar con buffer de cacodilatos	5 min (3 veces)
7. Acetona 30%, 50%, 70% y 90%	5 min
8. Se aclararon con acetona al 100%	5 min (3cambios)
9. Acetona-resinas epóxicas 1:1 (v/v)	1.00 h
10. Polimeriza a 60°C	12.00- 36.00 h

Ultramicrotomía de cortes semifinos

Una vez que se alcanzó la dureza ideal de la resina en el proceso de polimerización, los bloques de las piezas se rebajaron con una navaja, utilizando un microscopio estereoscópico hasta que se formó una pirámide en el extremo superior del bloque, se utilizaron cuchillas de vidrio preparadas en el aparato cortador de cuchillas LKB; para la microtomía se utilizó un ultramicrotomo Ultratome V LKB, y se obtuvieron cortes semifinos (0.5-1 μ de grosor). Los cortes se montaron por calor en portaobjetos y se tiñeron con azul de toluidina.

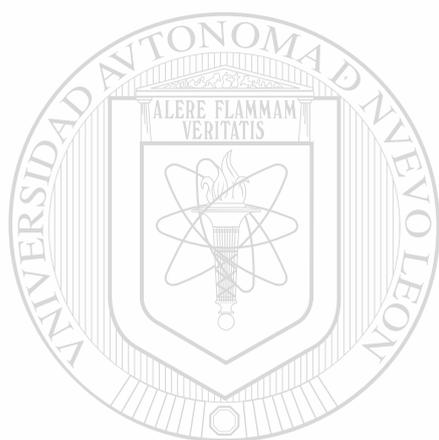
Técnica de azul de toluidina

SOLUCIONES

Azul de toluidina	1 g
Alcohol 96°	200 ml
Agua destilada	80 ml
Ac.acético	1 ml

PROCEDIMIENTO

1. Se adhieren al portaobjetos por calor
2. Sobre la platina caliente se tiñen con azul de toluidina 1 min
3. Se seca por calor la gota de colorante
4. Se enjuaga



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



APENDICE D

APENDICE ESTADISTICO

Análisis del peso total, longitud craneocaudal y peso húmedo del pulmón.

PESO TOTAL

PRUEBA DE T
AD/DM 0.6599
NO HAY DIFERENCIAS

LONGITUD
CRANEOCAUDAL

PRUEBA DE T
AD/DM 0.479
NO HAY DIFERENCIAS

PESO HUMEDO
DEL PULMON

PRUEBA DE T
AD/DM 0.236
NO HAY DIFERENCIAS

PESO TOTAL
ADLIBITUM/OH

PRUEBA DE T
AD/OH 0.0659
NO HAY DIFERENCIAS

PRUEBA DE T
AD/OH 0.113
NO HAY DIFERENCIAS

PRUEBA DE T
AD/OH 0.0369
SI HAY DIFERENCIA

PRUEBA DE T
DM/OH 0.1019
NO DIFERENCIAS

PRUEBA DE T
DM/OH 0.4789
NO HAY DIFERENCIAS

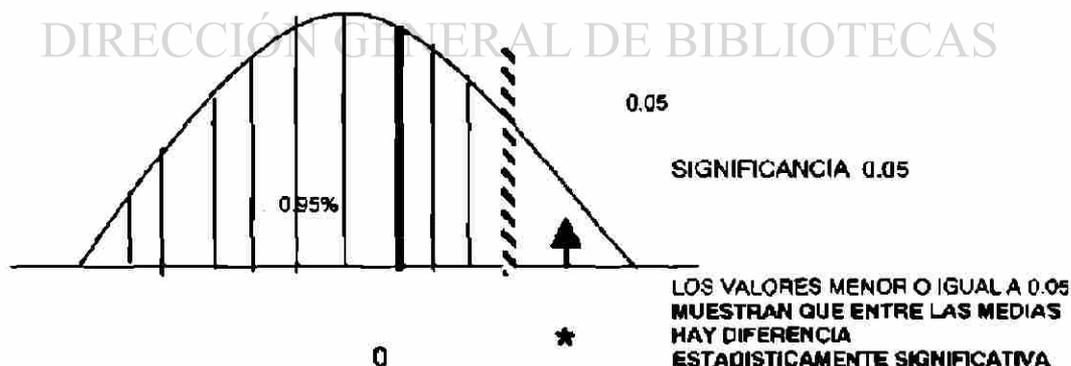
PRUEBA DE T
DM/OH $2E-09 = .000000002$
SI HAY DIFERENCIA

VALORES DE P = 0.05

	AD/DM	AD/OH	DM/OH
PESO TOTAL	0.6599	0.0659	0.1019
LONGITUD CRANEOCAUDAL	0.4789	0.113	0.4789
PESO HUMEDO DEL PULMON	0.2364	0.0369	$2E-09$

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



VALORES MAYORES 0.05 MUESTRAN QUE ENTRE LAS MEDIAS NO HAY DIFERENCIA ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA

Análisis morfométrico de los perfiles de las células contenidas en 100 alvéolos en la zona central del pulmón

NEUMOCITO II	CELULA CLARA DE LOS ALVEOLOS	CELULA INTERSTICIAL
PRUEBA DE T AD/DM 0.8314	PRUEBA DE T AD/DM 0.133	PRUEBA DE T AD/DM 0.063
NO HAY DIFERENCIAS	NO HAY DIFERENCIAS	NO HAY DIFERENCIAS

NEUMOCITO II ADLIBITUM/OH	CELULA CLARA DE LOS ALVEOLOS	CELULA INTERSTICIAL
PRUEBA DE T AD/OH 0.0659	PRUEBA DE T AD/OH .0048	PRUEBA DE T AD/OH 5.3692E-05
NO HAY DIFERENCIAS	<u>SI HAY DIFERENCIAS</u>	<u>SI HAY DIFERENCIA</u>

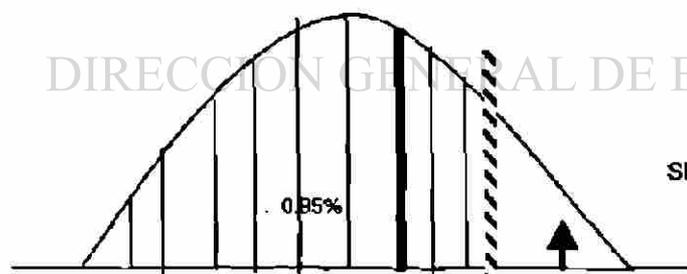
NEUMOCITO II	CELULA CLARA DE LOS ALVEOLOS	CELULA INTERSTICIAL
PRUEBA DE T DM/OH 0.06	PRUEBA DE T	PRUEBA DE T
NO DIFERENCIAS	DM/OH 0.00473	DM/OH 4.628E-05
	<u>SI HAY DIFERENCIAS</u>	<u>SI HAY DIFERENCIA</u>

VALORES DE P = 0.05

	AD/DM	AD/OH	DM/OH
NEUMOCITO II	0.8314	0.0659	0.06
C. CLARA DE LOS ALVEOLOS	0.1335	0.0048	0.4736
CELULA INTERSTICIAL	0.06	5.36E-05	4.62E-05

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS



SIGNIFICANCIA 0.05

LOS VALORES MENOR O IGUAL A 0.05
MUESTRAN QUE ENTRE LAS MEDIAS
HAY DIFERENCIA
ESTADISTICAMENTE
SIGNIFICATIVAS

0

*

VALORES MAYORES A 0.05 MUESTRAN QUE ENTRE LAS MEDIAS NO HAY DIFERENCIA ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

Análisis morfométrico de los perfiles de células contenidas en 100 alvéolos en la zona periférica del pulmón.

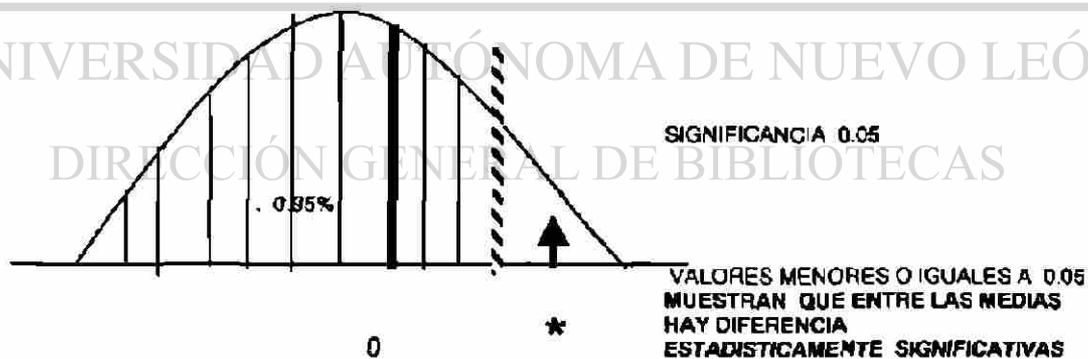
NEUMOCITO II	CELULA CLARA DE LOS ALVEOLOS	CELULA INTERSTICIAL
PRUEBA DE T AD/DM 0.0642	PRUEBA DE T AD/DM 0.3213	PRUEBA DE T AD/DM 0.07319
NO HAY DIFERENCIAS	NO HAY DIFERENCIAS	NO HAY DIFERENCIAS

NEUMOCITO II ADLIBITUM/OH	CELULA CLARA DE LOS ALVEOLOS	CELULA INTERSTICIAL
PRUEBA DE T AD/OH 3.7727-E.7	PRUEBA DE T AD/OH 0.00014	PRUEBA DE T AD/OH 8.3189E-05
SI HAY DIFERENCIAS	SI HAY DIFERENCIAS	SI HAY DIFERENCIA

NEUMOCITO II PRUEBA DE T	CELULA CLARA DE LOS ALVEOLOS PRUEBA DE T	CELULA INTERSTICIAL PRUEBA DE T
DM/OH 6.1099E-07	DM/OH 0.000446	DM/OH 8.7277E-06
SI HAY DIFERENCIA	SI HAY DIFERENCIAS	SI HAY DIFERENCIA

VALORES DE P = 0.05

	AD/DM	AD/OH	DM/OH
NEUMOCITO II	0.65424	3.77E-07	6.109E-07
C. CLARA DE LOS ALVEOLOS	0.32134	0.00014	0.0004461
CELULA INTERSTICIAL	0.073194	8.31E-05	8.727E-06



VALORES MAYORES A 0.05 MUESTRAN QUE ENTRE LAS MEDIAS NO HAY DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

APENDICE E

Los resultados obtenidos en las diferentes técnicas utilizadas en este trabajo de tesis doctoral se presentaron en cinco congresos cuatro y uno Internacional.

1. **IXX Congreso Nacional de Histología "EFECTO TRANSPACENTARIO DEL ETANOL ESTUDIO HISTOQUIMICO"**
México D.F. Octubre de 1994.

2. **XX Congreso Nacional de Histología y la Universidad de Chapingo "ESTUDIO HISTOQUÍMICO DE PULMON DE RATA RECIEN NACIDAS EXPUESTAS A ETANOL TRANSPACENTARIO "**
Montecillo Edo de México 26 Septiembre de 1996.

3. **XVII Congreso Nacionl de Investigación Biomédica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León "EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN TRANSPACENTARIAS DEL ETANOL EN EL DESARROLLO DEL PULMÓN "** en Monterrey Nuevo León 18 Octubre de 1999.

4. **XXIII Congreso Nacional de Histología "EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN TRANSPACENTARIAS DEL ETANOL EN LA MORFOGENESIS DEL PULMÓN"** Organizado en la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León 6 Octubre de 1998.

5. **Memorias International Symposium of Morfogenetic and Genetic Analysis of Vertebrate Development "EFFEC OF TRANSPACENTRAL ADMINISTRATION OF ETHANOL ON LUNG "®**
Organizado por la Universidad Complutense en Madrid /España 27 de Noviembre 1998 Publicado en *European Journal of Anatomy* Vol.2 No.3 pp188, Diciembre 1998.

RESUMEN AUTOBIOGRAFICO

María Guadalupe Moreno Treviño

Candidato para el Grado de

Doctor en Ciencias con Especialidad en Morfología

Título de la Tesis: EFECTO DE LA ADMINISTRACION TRANSPLACENTARIA DE ALCOHOL EN EL DESARROLLO DEL PULMON DE RATA

Campo de Estudio: Morfología

Biografía:

Datos Personales: Nacida en Monterrey Nuevo León, el 19 de Mayo de 1963, hijo del Dr. Gerardo Moreno Torres y Sra. María Guadalupe Treviño Tamez.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Grado Obtenido: Médico Cirujano y Partero en 1986.

Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Grado Obtenido: Maestría en Ciencias con especialidad en Morfología 1994.

Experiencia Profesional: Becario de pregrado del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde 1983-1988.

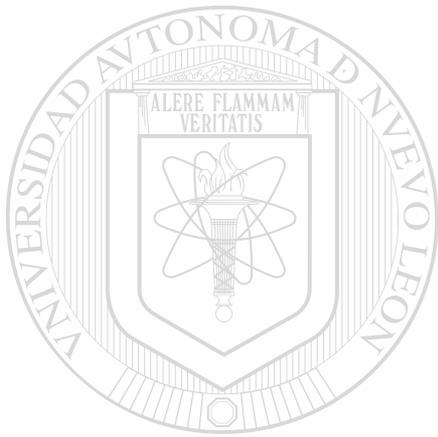
Personal Profesional no docente de tiempo completo adscrito al Departamento de Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León participando como maestro de Histología teoría y laboratorio 1990-2000.

Maestro participante en el curso de Histología de postgrado de la Facultad de Medicina de la de la Universidad Autónoma de Nuevo León 1994-2000. Estudiante distinguido de la maestría en Ciencias con especialidad en Morfología en 1994.

Un artículo publicado en revista con arbitraje Internacional. Miembro de la Sociedad Mexicana de Histología, Miembro de la Sociedad Anatómica Española.

Maestro por horas de la materia de Histología de teoría y laboratorio de la carrera de Médico Cirujano Partero de la División de Estudios Generales de la Universidad de Monterrey UDEM de 1996-2002.

Participación y asistencia a 30 congresos.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



