TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO

1. INTRODUCCIÓN 1

1.1 Peroxisomicina A1 1

1.2 Haemaccel® 5

1.3 Síndrome de Insuficiencia Respiratoria del Adulto (SIRA) 5

1.4 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) 7

1.5 JUSTIFICACIÓN 8

1.6 OBJETIVO GENERAL 8

1.7 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 9

2. MATERIAL Y MÉTODOS 10

2.1 Material biológico utilizado 10

2.2 Equipo utilizado 10

2.3 Reactivos utilizados 11

2.4 Grupos experimentales 12

2.5 Preparación y administración de la PA1 13

2.6 Obtención de las muestras de sangre y pulmón 14

2.7 Procesamiento de las muestras 15

2.8 Análisis morfométrico y estadístico 15

2.9 Homogenización de pulmón para la cuantificación de TNF-α 16

2.10 Cuantificación de TNF-α por ELISA 17

2.11 Cuantificación de proteínas 17

3. RESULTADOS 18
3.1 Descripción histológica del pulmón a microscopía de luz 18
3.1.1 Control sin tratamiento 18
3.1.2 Control tratado con vehículo Haemaccel® 18
3.1.3 Tratamiento con PA1 en Haemaccel 19
3.1.4 Control positivo tratado con LPS 20
3.2 Análisis morfométrico a microscopía de luz 24
3.2.1 Polimorfonucleares 24
3.2.2 Macrófagos alveolares 25
3.2.3 Linfocitos 25
3.3 Descripción ultraestructural del pulmón 27
3.3.1 Control sin tratamiento 27
3.3.2 Control tratado con vehículo Haemaccel 27
3.3.3 Tratamiento con PA1 en Haemaccel 28
3.3.4 Control positivo tratado con LPS 28
3.4 Cuantificación de TNF-α en suero y homogenado pulmonar por el método de ELISA 33

4. DISCUSIÓN 35

5. CONCLUSIONES, PERSPECTIVAS Y CONTRIBUCIONES 39
5.1 CONCLUSIONES 39
5.2 PERSPECTIVAS 40
5.3 CONTRIBUCIONES 40

REFERENCIAS 41

LISTA DE FIGURAS

Figura

1. Arbusto de la *Karwinskia humboldtiana*..... 2
2. Estructura química de la T-514 (Peroxisomicina A1)..... 3
3. Diseño experimental del trabajo..... 13

4. Pulmón de ratón, fotomicrografías, control sin tratamiento y 0.5 h posterior al tratamiento con Haemaccel por vía i.v..... 20
5. Pulmón de ratón, fotomicrografías, 1 h y 1.5 h posterior al tratamiento con Haemaccel por vía i.v..... 21
6. Pulmón de ratón, fotomicrografías, 3 h y 4.5 h posterior al tratamiento con Haemaccel por vía i.v..... 21
7. Pulmón de ratón, fotomicrografías, 0.5 h y 1 h posterior al tratamiento con PA1 en Haemaccel por vía i.v..... 22
8. Pulmón de ratón, fotomicrografías, 1.5 h y 3 h posterior al tratamiento con PA1 en Haemaccel por vía i.v..... 22
9. Pulmón de ratón, fotomicrografías, 4.5 h posterior al tratamiento con PA1 en Haemaccel por vía i.v. y 1.5 h posterior al tratamiento con LPS por vía i.v..... 23
10. Pulmón de ratón, fotomicrografías, 3 h y 4.5 h posterior al tratamiento con LPS por vía i.v..... 23

11. Cinéticas de PMN, macrófagos alveolares y linfocitos en el pulmón de ratón..... 26

12. Pulmón de ratón, micrografías electrónicas, control sin tratamiento..... 29
13. Pulmón de ratón, micrografías electrónicas, 0.5 h y 1 h posterior al tratamiento con Haemaccel, 0.5 h y 1 h posterior al tratamiento con PA1 en Haemaccel..... 30
14. Pulmón de ratón, micrografías electrónicas, 1.5 h y 3 h posterior al tratamiento con Haemaccel, 1.5 h y 3 h posterior al tratamiento con PA1 en Haemaccel..... 31
15. Pulmón de ratón, micrografías electrónicas, 4.5 h posterior al tratamiento con Haemaccel, 4.5 h posterior al tratamiento con PA1 en Haemaccel, 1.5 h y 3 h posterior al tratamiento con LPS..... 32

16. Cinética de la concentración de TNF-α en suero..... 33
17. Cinética de la concentración de TNF-α en pulmón..... 34

18. Curva patrón de TNF-α..... 51
19. Curva patrón de proteínas..... 53

Abreviaturas y símbolos

α	Alfa
β	Beta
CD-1	Cepa de ratones CD-1
CD11/18	Molécula de diferenciación de grupo 11/18 (siglas en inglés)
CHAPS	Colamidopropil dimetil amonio 1 propano sulfonato
C3a	Fracción 3a del Complemento
C5a	Fracción 5a del Complemento
cols.	Colaboradores
Corp.	Corporation, corporación (siglas en inglés)
d.u.	Dosis única
Dr.	Doctor
ELISA	Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzima (siglas en inglés)
fig.	Figura
G	Calibre de aguja
g	Gramos
h	Horas
Haem	Haemaccel®
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1 (siglas en inglés)
ICAM-2	Molécula de adhesión intercelular 2 (siglas en inglés)
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
Inc	Incorporation, Corporación, Asociación (siglas en inglés)
i.p.	Intraperitoneal
i.v.	Intravenoso
Kg	Kilogramo, kilogramos
λ	Lambda, longitud de onda
LFA-1	Antígeno de función de linfocitos (siglas en inglés)
linf	Linfocito
LPS	Lipopolisacárido
M	Molar

mac	Macrófago
Mac-1	Molécula de adhesión celular 1
min	Minutos
ml	Mililitro, mililitros
mm^3	Milímetros cúbicos
μg	Microgramos
μm	Micrómetros
N	Normal
ng	Nanogramos
nm	Nanómetros
nM	Nanomolar
NK	Natural killer, asesinas naturales (siglas en inglés)
PA1	Peroxisomicina A1
pg	Picogramos
pH	Logaritmo negativo de la concentración de iones H^+
PMN	Polimorfonuclear, polimorfonucleares
PMSF	Fenil metil sulfonil fluoruro
®	Marca registrada
r.p.m.	Revoluciones por minuto
T	Toxina
™	Trade mark, marca comercial (siglas en inglés)
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral alfa (siglas en inglés)
Tx	Tratamiento
seg	Segundos
SIRA	Síndrome de Insuficiencia Respiratoria del Adulto
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
UV	Ultravioleta
$2DL_{50}$	Dos veces la dosis letal media
°C	Grados centígrados, grados Celsius
%	Por ciento
<	Menor que
-	Menos

RESUMEN

Jaime García Juárez

Universidad Autónoma de Nuevo León.
Facultad de Medicina.

Fecha de graduación: Junio 2004

Título del Estudio: **CUANTIFICACION DE PMN, LINFOCITOS Y MACROFAGOS ALVEOLARES EN EL PULMON DEL RATON ALBINO TRATADO CON UNA DOSIS TOXICA DE PA1 EN HAEMACCEL Y SU RELACION CON EL TNF-α**

Número de páginas: 55

Area de Estudio: Morfología

Candidato para el grado de Maestro en Ciencias con Especialidad en Morfología

Propósito y Método de estudio: La T-514 es una toxina producida por las plantas del género *Karwinskia.* También se llama peroxisomicina A1 (PA1) por alterar de forma selectiva e irreversible la membrana de los peroxisomas de levaduras metilotróficas. La PA1 tiene toxicidad selectiva *in vitro* sobre células tumorales de hígado, colon y pulmón. Actualmente se encuentra en estudios de fase clínica I en pacientes con carcinoma terminal, sin tratamiento alternativo. Los animales intoxicados experimentalmente con PA1 sufren daño en riñón, hígado y pulmón. En el pulmón de roedores y monos, la PA1 ocasiona un infiltrado inflamatorio. Además, cuando se administra por vía i.p. en roedores, ocasiona una elevación de TNF-α. Este trabajo evalúa el efecto de una dosis tóxica i.v. de PA1 en Haemaccel® sobre el pulmón del ratón albino, ya que en los estudios de fase clínica I se utiliza esta vía y este vehículo para su administración.
Se recolectaron ambos pulmones; el pulmón derecho se homogenizó y en el sobrenadante se cuantificó TNF-α por ELISA y proteínas por el método de Lowry, el pulmón izquierdo se fragmentó y se procesó para su revisión histológica, morfométrica y ultraestructural. Se extrajo la sangre de la vena cava inferior, para cuantificar TNF-α sérico por ELISA.
Conclusiones y contribuciones: En el estudio morfométrico se encontró un aumento en el número de pmn, macrófagos y linfocitos presentes en la región alveolar del pulmón, en los grupos tratados con PA1 en Haemaccel, y en los tratados con Haemaccel, comparados con el grupo control sin tratamiento. A microscopía electrónica se encontró edema de las células endoteliales y alveolares de tipo I, exudado en el espacio aéreo, ruptura de la barrera alvéolo-capilar y hemorragia en los grupos tratados con PA1 en Haemaccel. En el grupo tratado con Haemaccel, se encontró edema de las células endoteliales y alveolares tipo I. También se encontró elevación de TNF-α sérico y pulmonar en el grupo tratado con PA1 en Haemaccel y elevación de TNF-α pulmonar en el grupo tratado con Haemaccel, comparados con el grupo control sin tratamiento. Los resultados obtenidos demuestran que la PA1 administrada por vía i.v. ocasiona infiltrado inflamatorio y daño a la barrera alvéolo-capilar, y elevación de TNF-α sérico y pulmonar. También se demostró que la administración i.v. de Haemaccel ocasiona daño pulmonar y elevación de TNF-α pulmonar.

FIRMA DEL DIRECTOR DE TESIS

M.C.P. y Ph. D. JULIO SEPÚLVEDA SAAVEDRA