

1988-2

Registro No. 81307652

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

---

FACULTAD DE CIENCIAS



EFFECTO TOXICO DEL ACIDO  
OLEICO EN EL HIGADO DE LA RATA.

**TESIS PROFESIONAL**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGIA  
PRESENTA

GRACIELA GUDIÑO CABRERA

DIRECTOR Y ASESOR DE TESIS

M. EN C. GENARO GABRIEL ORTIZ

GUADALAJARA, JALISCO, MAYO DE 1989.

## AGRADECIMIENTOS

1. The first part of the document is a list of names and addresses of the members of the committee. The names are listed in alphabetical order, and the addresses are given in full, including the street, city, and state.

2. The second part of the document is a list of the names and addresses of the members of the committee who have been elected to the office of chairman and vice-chairman. The names are listed in alphabetical order, and the addresses are given in full, including the street, city, and state.

3. The third part of the document is a list of the names and addresses of the members of the committee who have been elected to the office of secretary and treasurer. The names are listed in alphabetical order, and the addresses are given in full, including the street, city, and state.

4. The fourth part of the document is a list of the names and addresses of the members of the committee who have been elected to the office of member-at-large. The names are listed in alphabetical order, and the addresses are given in full, including the street, city, and state.

Este trabajo fué realizado en el Laboratorio de Morfología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Guadalajara, en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Guadalajara y en el Laboratorio de Cirugía experimental de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de Occidente del IMSS. Bajo la asesoría y dirección del M. en C. Genaro Gabriel Ortiz.

Se agradece particularmente al M. en C. Adolfo Cárdenas Ortega por su participación en las pruebas bioquímicas y especialmente al M. en C. Javier Flores Alvarado por su ayuda y asesoría a lo largo del trabajo.

## INDICE

CONTENIDO	PAGINA
Introducción.....	7
Planteamiento del problema.....	18
Hipótesis.....	20
Objetivos.....	22
Material y métodos.....	24
Resultados.....	29
Discusión.....	33
Conclusiones.....	36
Tablas y figuras.....	38
Bibliografía.....	65
Carta de aceptación de tesis.....	68
Carta de terminación de tesis.....	69

## INTRODUCCION

## INTRODUCCION

En plantas superiores y animales, encontramos cuatro familias distintas de ácidos poliénoicos ( enol: forma tautomérica de una cetona o aldehído), las cuales llevan el nombre de su ácido graso precursor; palmitoleico, oleico, linoleico y linolénico, a partir de los que derivan todos los ácidos poliénoicos encontrados en los mamíferos [14]. A excepción de los ácidos linoleico y linolénico, en el caso de animales superiores, el resto de ácidos grasos son susceptibles de ser sintetizados por el propio organismo [19].

A pesar de que los ácidos grasos se encuentran en gran cantidad en los seres vivos, están esterificados en triglicéridos (almacén de energía a través de adipocitos), ésteres de colesterol (almacén de colesterol) y fosfoglicéridos (componentes de los sistemas de membranas), y sólo una pequeña cantidad en estado libre, provenientes del tejido adiposo y de la hidrólisis de triglicéridos, los cuales se recambian constantemente pues su vida media es corta [16].

El ácido oleico es el ácido graso monoénoico más ampliamente distribuido en la naturaleza, y el más común en los tejidos animales, cuya fórmula es  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ , con un doble enlace (cis) en los carbonos 9 y 10 [14,18], sus precursores son el ácido palmítico y esteárico. En los vertebrados, el doble enlace es introducido por un sistema específico de una monooxigenasa situado en el retículo endoplásmico de los hepatocitos (hígado) y adipocitos (tejido adiposo). Se utiliza una molécula de oxígeno ( $\text{O}_2$ ) como aceptor de dos pares de electrones, uno de

ellos precedente del palmitoil Co-A o del estearil Co-A como sustrato y el otro del NADPH, que es el coagente reductor [14].

El ácido oleico es un líquido incoloro o de un tono amarillo pálido, aceitoso, se vuelve opaco al exponerlo al aire, su sabor y olor son característicos y semejantes al de la manteca de cerdo. Prácticamente insoluble en agua, soluble en alcohol, cloroformo y eter. Posee un peso molecular de 282.45 [15,18], y su punto de fusión es de 13.4 grados centigrados [14].

Se usa comunmente como auxiliar en la emulsificación de jabones [18], en la preparación del aceite rojo de Turquía ( o de castor ) en la industria textil y como lubricante [15].

También se ha utilizado como colerético (provoca la secreción de bilis) en conejos [27], administrado en la dieta (15 %), incrementa el colesterol en la bilis, y provoca la formación de cálculos en la vesícula biliar [1,22], administrado en ratas con 24 h. de ayuno, estimula la síntesis de ciertas lipoproteínas [26], es irritante de piel y membranas mucosas [15], se conoce que en dosis orales de 5 ml ( en humanos ), causa contracción de la vesícula biliar y un incremento en el flujo de la bilis, si se ingiere en grandes cantidades destruye los eritrocitos causando anemia [18].

Se emplea también en medios de cultivo para hepatocitos aislados, mezclado con albúmina sérica de bovino para estudios bioquímicos in vitro [2,9,29], en otros estudios se utiliza el ácido oleico (1-14 C) para medir la acumulación de triacilglicerol [11]. El ácido oleico, por si solo en medios de cultivo, aumenta la glucogénesis hasta en un 76 % y combinado con agentes alfa adrenérgicos hasta en un 110 % [12].



Este ácido graso, se ha utilizado como modelo, en ratas, para inducir daño pulmonar. Inyectado por vía intravenosa, ocasiona una disminución en la ventilación respiratoria; fisiológicamente aumenta la presión pulmonar y arterial, disminuyendo la sistémica, e histológicamente provoca alveolitis hemorrágica aguda, con la consecuente alveolitis fibrosa [3].

Si bien se han realizado diversos estudios acerca del efecto del ácido oleico sobre los pulmones al ser administrado por vía intravenosa, no encontramos en la literatura practicamente nada acerca de su efecto sistémico o a otros niveles, al ser administrado intraperitonealmente.

En el laboratorio de bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Guadalajara, el ácido oleico se utilizó, en un modelo de inducción de cirrosis experimental, como vehiculo para administrar intraperitonealmente tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>), modelo en el que originalmente se utilizo aceite mineral para los testigos [5], sin embargo, se observó que en los animales testigo (inyectados exclusivamente con ácido oleico) el daño era mayor que en los experimentales [6], así pues, enfocamos el presente trabajo al efecto tóxico que el ácido oleico pueda producir sobre el hígado.

Este órgano es una glándula de secreción mixta, la mayor del cuerpo ( 2 % del peso corporal [2] ), situada debajo del diafragma, por encima del estómago y las asas del intestino delgado.

Es de forma semiovoidea y dividido en lóbulos ( cuatro en la rata [28] ), sustentado por el ligamento redondo del hígado, por la vena cava inferior, y por los repliegues del peritoneo [9,13].

Histológicamente está formado por parénquima, de índole epitelial, y estroma, de tejido conectivo [2,9,13].

Las células del parénquima; hepatocitos, se hallan dispuestas en hileras (cordones hepáticos) de una a dos células de ancho, las cuales suelen anastomarse entre sí rodeando a los sinusoides ( vías sanguíneas del hígado ), que se encuentran revestidos por dos tipos de células; las de tipo endotelial cuyo núcleo es pequeño, alargado y oscuro y su citoplasma posee pocos organelos y las células Kupffer ( retículo endoteliales ) de núcleo pálido, grande y citoplasma notable, que presentan movimientos ameboides y son fagocíticas. Entre las paredes de los sinusoides y los hepatocitos, existe un "espacio de Disse", el cual contiene plasma sanguíneo y microvellosidades provenientes de la superficie de los hepatocitos que proporcionan una gran área de superficie para la absorción y secreción (Fig. 4)

El estroma, por su parte, está formado por la cápsula de Glisson que recubre al hígado, y está compuesta de tejido conectivo con fibras colágenas y fibroblastos dispersos. Cubierta a su vez por una capa de células mesoteliales. A nivel del hilio, el tejido conectivo de la cápsula de Glisson, penetra al parénquima, y se ramifica en todo el órgano, permitiendo la distribución de los sistemas de conducción [2,9,13].

La conducción en el hígado (Fig. 1) se realiza por 4 sistemas de tubos; a) La vena porta la cual lleva sangre cargada de nutrientes proveniente del intestino ( luz mayor ), b) La arteria hepática la cual lleva sangre arterial para la irrigación propia del órgano, c) El conducto biliar que realiza el transporte de secreción exócrina, y está formado por células epiteliales y

d) El tubo linfático, de paredes delgadas que drena la linfa que sale del hígado [8,9,13].

La vena porta y la arteria hepática penetran en el órgano a nivel de la porta hepática, y la porción intrahepática del conducto biliar sale a través del mismo orificio. Las ramas de los tres vasos discurren juntas dentro del hígado constituyendo la triada de Glisson, que junto con el tejido conectivo y en unión de las vías linfáticas constituyen las tetradas portales, que ocupan el espacio porta y están localizadas en las uniones de los lobulillos hepáticos los cuales constituyen la unidad estructural del hígado, y se pueden definir como divisiones secretorias hexagonales que drenan en conductos comunes (Fig. 2)

El lobulillo hepático puede dividirse en tres zonas; la región periportal, la cual es la primera en recibir la sangre hepática y portal; la región centro lobulillar, que rodea a la vena central; y una tercera región situada entre ambas. Como consecuencia de una disminución en el riego sanguíneo la región centro lobulillar se verá más afectada, mientras una lesión ocasionada por agentes hepatotóxicos se manifestará principalmente en la región periportal [2].

Para optimizar la afluencia de sangre oxigenada de los espacios portales a los sinusoides, y de ahí a la vena central, (Fig. 3) están los acinos hepáticos (subdivisión estructural del hígado), ya que la sangre proveniente de la vena porta pierde oxígeno y acumula bióxido de carbono en su trayecto hacia la vena central. Por lo que tanto la arteria hepática como la vena porta se ramifican periódicamente penetrando y vaciándose en el parénquima [8,9].

En un corte transversal, los acinos tienen forma rómbica y cada extremo converge en una vena central. Los hepatocitos son de forma poligonal, con núcleos esféricos con gránulos de cromatina diseminados y uno o más nucleolos. Su citoplasma contiene todos los organelos (Fig. 4), con abundancia de mitocondrias ( 20 % del volumen total ), que realizan el ciclo de los ácidos tricarbóxicos, la catabolia de los ácidos grasos, y la fosforilación oxidativa para proporcionar ATP, además intervienen en la síntesis de urea y del grupo hemo. El citoplasma presenta pequeñas variaciones en su conformación según su actividad ( principalmente en el almacenamiento de glucógeno y grasas ) [2,9].

El retículo endoplásmico rugoso tiene a su cargo la síntesis de enzimas de los hepatocitos y de proteínas para utilización extracelular, contiene sistemas que pueden metabolizar diversos medicamentos; uno de los más importantes es el citocromo P-450, el aparato de Golgi se ocupa de su secreción. El retículo liso, que proporciona los microsomas cuando las células se fraccionan y se homogenizan, tiene a su cargo la formación de conjugados glucorónidos de la bilirrubina y otras sustancias, así como la síntesis de colesterol y su metabolismo hasta ácidos biliares, el metabolismo de hormonas esteroides y gran parte de las conversiones metabólicas de drogas y otros productos químicos [2].

Se calcula que más de 500 actividades metabólicas se efectúan en una sola célula hepática. Las funciones básicas del hígado pueden dividirse de la siguiente manera: [2,7,8]

a) Funciones vasculares; de almacenamiento y filtración de sangre.

b) Funciones exócrinas; producción de bilis por los hepatocitos, los cuales, formados en hileras, vacían su producto en un sistema de conductos llamados canalículos biliares, pasando dicha secreción posteriormente hacia los tabiques interlobulillares donde se vacía en los conductos biliares terminales, hasta alcanzar finalmente el conducto hepático y el colédoco, almacenándose en la vesícula biliar, vaciándose por último en el duodeno.

También se excretan: bilirrubina, que es uno de los principales productos terminales de la descomposición de la hemoglobina, colesterol, como precursor de las sales biliares y lecitinas. Las sales biliares que componen la bilis presentan dos funciones en el tubo digestivo: poseen un efecto detergente sobre las partículas grasas de alimento ( función emulsionante ) y facilitan la absorción de ácidos grasos, monoglicéridos, colesterol y demás lípidos.

c) Funciones metabólicas;

-Metabolismo de carbohidratos: almacena glucógeno y efectúa la gluconeogénesis a partir de aminoácidos, regulando la concentración de glucosa en sangre. Forma muchos compuestos a partir del metabolismo de productos intermedios del metabolismo glúcido.

-Metabolismo de lípidos: realiza la beta-oxidación de ácidos grasos, para obtener energía de las grasas neutras formando acetil coenzima A. Forma el ácido acetoacético condensando dos moléculas de acetil coenzima A, para almacenarlas y transportarlas. Forma lipoproteínas, pues las partículas lipídicas por solas son hidrófobas y no podrían mantenerse en suspensión en sangre. Forma colesterol como precursor de las sales biliares y fosfolípidos. Convierte carbohidratos en grasas (almacenamiento).

-Metabolismo proteico: efectúa la desaminación de aminoácidos, forma urea para suprimir el amoniaco de los líquidos corporales. Forma proteínas plasmáticas como albúmina, fibrinógeno, y la mayor parte de las globulinas.

Además de estas funciones, presenta; almacenamiento de vitaminas, principalmente A, B y B 12, desintoxica excretando hacia la bilis muchos fármacos, por ejemplo, sulfonamidas, penicilina, ampicilina y eritromicina, excreta hormonas como la tiroxina y prácticamente todas la hormonas esteroides como estrógenos, cortisol, aldosterona y otras [2,7,8].

La estructura así como el funcionamiento en general de las células hepáticas, al igual que todas las células del organismo, pueden alterarse por diversos factores, como un cambio en el micro ambiente, el contacto de las células con agentes químicos o influencias físicas que alteran su estructura, y su daño se manifiesta por cambios morfológicos que resultan de lesiones generalmente reversibles denominadas degeneraciones, entre las que se reconocen 4 tipos fundamentales [20,25].

a) Tumefacción celular: es consecuencia de un transtorno en el metabolismo proteico, y se manifiesta como un aumento en el diámetro celular que resulta del desplazamiento del agua extracelular al interior debido al aumento en la permeabilidad de la membrana ( o pérdida de potencial ).

b) Degeneración vacuolar: cambio muy similar al anterior que se manifiesta al continuar la acumulación de agua en el interior de la célula, con la formación de vacuolas que van aumentando de tamaño provocando en algunos casos que la célula estalle.

c) Metamorfosis grasa: denota acumulación anormal de grasa menudo en células que previamente han sufrido un proceso de acumulación de agua y formación de vacuolas, y anuncia muerte celular.

d) Necrosis: proceso irreversible de degeneración celular llamado también muerte celular. Puede definirse como los cambios morfológicos causados por la acción degradante progresiva de las enzimas sobre las células sometidas a lesión mortal, se caracteriza por la digestión enzimática de la célula con desnaturalización de proteínas.

Los cambios en el núcleo siguen aproximadamente la siguiente secuencia: inicialmente se encoge y condensa el material nuclear en un fenómeno denominado picnosis que es señal inequívoca de que la célula está muriendo, aparecen hendiduras en el núcleo (cariosquisis), que posteriormente se fragmenta (cariorrexis), y luego se destruye (cariólisis) desapareciendo por último la cromatina nuclear (cromatólisis) [20].

La lesión de células parenquimatosas ( hepatocitos ), producida por drogas, libera, entre otras, algunas enzimas como las amino transferasas glutámico-oxalacética ( TGO ) y glutámico-pirúvica ( TGP ), la concentración de la primera en el hígado es normalmente nueve mil veces mayor que en sangre y la segunda es 200 veces mayor, de manera que un aumento de actividad sérica de TGO y TGP puede ser consecuencia de una lesión hepática [2].

Las amino transferasas catalizan la transferencia de un grupo amino NH de un ácido alfa-amino a un ácido alfa-ceto, formando un nuevo aminoácido y un nuevo ceto-ácido. Particularmente la TGP cataliza la transferencia del grupo alfa-amino de la

alanina al ácido alfa-cetoglutarico produciendo la formación de ácidos pirúvico y glutámico respectivamente, mientras que la TGO cataliza la transferencia del grupo alfa-amino del ácido aspártico al ácido alfa-cetoglutarico produciendo la formación de ácidos oxalacético y glutámico respectivamente [14].

Los parámetros mencionados anteriormente, tanto morfológicos como bioquímicos, son de gran utilidad para evidenciar daño causado por un agente externo, como en el caso del ácido oleico, tanto a nivel macroscópico como microscópico, e incluso una probable alteración funcional.



PLANTEAMIENTO  
DEL  
PROBLEMA

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En estudios anteriores donde se utilizó en ratas el ácido oleico como vehículo para administrar intraperitonealmente tetracloruro de carbono para la inducción de cirrosis experimental, se observó que en los animales testigo el daño era más severo que en los experimentales.

En base a lo anterior, se presenta este trabajo que busca esclarecer las alteraciones morfológicas que sufra el hígado, bajo la influencia de la administración intraperitoneal de ácido oleico, para lo cual se realizará un estudio histológico y una correlación bioquímica.

## HIPOTESIS

#### HIPOTESIS

En base a los antecedentes presentados esperamos que el ácido oleico administrado intraperitonealmente provoque degeneración celular e incluso fibrosis a nivel hepático.

## OBJETIVOS

## OBJETIVOS

1- Conocer el efecto toxico del acido oleico sobre el hígado.

1.1 Hacer una descripción macroscópica e histológica del hígado afectado y normal.

2- Efectuar un estudio bioquímico:

2.1 Las alteraciones en los niveles de las enzimas amino transferasas glutámico-pirúvica y glutámico-oxaloacética.

2.2 Efecto sobre los niveles de ácido láctico

MATERIAL  
Y  
METODOS

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas adultas (300-350 grs.) machos de la cepa Sprague-Dawley. Todos los animales estuvieron controlados bajo condiciones óptimas de bioterio, esto implica temperatura y humedad controladas, periodos de luz/obscuridad de 12/12 h., alimentación con nutricubos (Purina) y agua ad-libitum. Se formaron 4 grupos de 5 ratas cada uno, tomándose uno de ellos como testigo.

A los animales experimentales se les inyectó intraperitonealmente (i.p.) 150 ul de ácido oleico 3 veces por semana (lunes, miércoles, y viernes), mientras que los testigo recibieron 150 ul de aceite mineral [4,5]. Uno de los grupos experimentales se sacrificó a la primer semana de tratamiento (3 inyecciones), otro de los grupos se sacrificó a la segunda semana (6 inyecciones) junto con el grupo testigo, mientras que el último grupo fué sacrificado una semana después de la sexta inyección.

Todos los animales se anestesiaron con tiopental sódico a razón de 25 mg. / kg de peso ( 2 dosis ) y una vez que el animal estuviera relajado se hizo un corte en el extremo distal (terminal) de la cola del animal y se tomó una muestra de sangre de 150 ul con un capilar, con la que se realizó una determinación basal de ácido láctico. A continuación se administró, mediante una sonda gástrica ( o cánula ), 1 ml de galactosa. Una hora después de la administración de la galactosa, se tomó otra muestra de sangre de la cola mediante el procedimiento ya descrito. Ambas muestras se procesaron con ácido perclórico, se centrifugaron 10 minutos a 3,000 R.P.M y se leyeron en el espectrofotómetro a 340 nm.



Inmediatamente después, se realizó una toracotomía, previa anestesia en una cámara de éter etílico, se extrajo del ventrículo izquierdo, mediante punción cardíaca con aguja del No.20, una muestra de 4 - 5 ml. de sangre para las pruebas bioquímicas; determinación de amino transferasas séricas. Se dejó coagular la sangre por espacio de 10 minutos y se centrifugó por un tiempo mínimo de 10 minutos a 3,500 R.P.M. en una centrifuga BHG modelo óptima II.

Una vez extraídas las muestras de sangre, los animales se perfundieron por vía intracardiaca mediante un cateter al ventrículo izquierdo y un corte a nivel de la aurícula derecha, para infundir una solución lavadora amortiguada en fosfatos ( Sol. "A" ver tabla 1 ) por espacio de 3 - 4 minutos, y una solución fijadora amortiguada en fosfatos ( Sol. "B" ver tabla 2 ) por espacio de 8 - 10 minutos, con una presión de 1.4 m. ( Según el método de Feria- Karnowsky ).

Después de la perfusión se extrajo el hígado y se sometió a una posfijación en la solución "B" por espacio de 2 h. Se realizó la descripción macroscópica de la cavidad abdominal y se tomaron fotografías representativas.

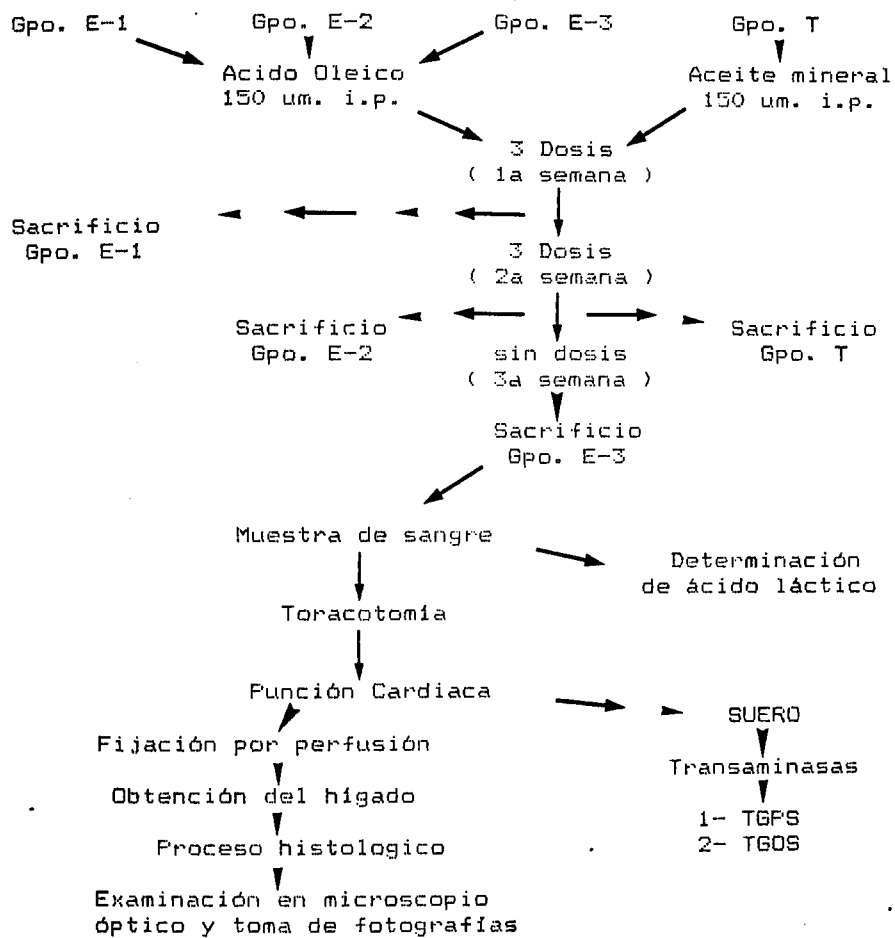
Las muestras de tejido hepático así obtenidas se sometieron a un proceso de deshidratación en soluciones de concentración creciente de etanol ( 70 %, 80 %, 90 %, y absoluto ) 2 baños en cada una por espacio de 20 minutos cada baño, posteriormente se aclararon en xilol ( etanol/xilol 1:1 por 15-20 minutos, y xilol absoluto por 15 minutos ).

Una vez deshidratadas y aclaradas, las muestras se embebieron e incluyeron en paraplast/plus, el cual es mantenido en estado líquido en una estufa a 60 - 62 grados centígrados. De los bloques así obtenidos se realizaron cortes en un microtomo rotatorio 820 AO Scientific Instruments, la tinción de los cortes se hizo utilizando la técnica de hematoxilina-eosina (H.E). Se tomaron microfotografías en un microscopio Microstar IV equipado con un control de disparo Expostar AO Scientific Instruments.

Para la medición de amino transferasas, se utilizaron reactivos ALT-optimizado (alanina - aminotransferasa) y AST-optimizado (aspartato - aminotransferasa) de Beckman Instruments Inc. Los reactivos fueron preparados de acuerdo al instructivo anexo al kit. Se utilizó un espectrofotómetro Coleman, Jr. II calibrándose a una longitud de onda de 340 nm., temperatura de incubación de 25 grados centígrados. La absorbancia se leyó y registró a intervalos de 1 minuto durante 3 minutos ( 3 lecturas ). Posteriormente se calculó el promedio de cambio de absorbancia por minuto ( A/min. ).

Los resultados de todas las pruebas fueron evaluados mediante el empleo de métodos estadísticos inferenciales y semi-paramétricos.

DIAGRAMA EXPERIMENTAL



## RESULTADOS

## 1 EVALUACION HISTOPATOLOGICA

### 1.1 Descripción macroscópica del hígado.

#### Grupo testigo :

La cavidad abdominal mostró una membrana peritoneal traslúcida y con su brillo característico, la totalidad de los órganos contenidos en ella presentaron características normales de tamaño, forma, textura y coloración, sin encontrar indicios de algún proceso anormal. El hígado, en particular, de consistencia suave tuvo un color rojo intenso, la cápsula de Glisson se encontró intacta, su aspecto general no presentó alteraciones.

#### Grupos experimentales :

##### a) Grupo E-1 :

El aspecto general de la cavidad abdominal manifestó una peritonitis aguda serofibrinosa, el peritoneo se observó opaco, blanquecino, con múltiples adherencias en toda la cavidad, principalmente en el espacio virtual entre la porción inferior del diafragma y la postero superior del hígado, el cual se presentó contraído, pálido y de consistencia dura.

Se observó un incremento en la cantidad de grasa peritoneal, con la formación de depósitos grasos y de tipo caseiforme, localizados principalmente en la superficie anterior del hígado.

b) Grupo E-2 :

Nuevamente encontramos datos de peritonitis, con numerosas adherencias así como natas de fibrina en toda la cavidad, con focos hemorrágicos localizados principalmente en hígado y riñón. El hígado se presentó muy contraído y de consistencia dura. Encontramos acumulación de líquido en la cavidad peritoneal (ascitis), con depósitos de tipo caseínico diseminados en la cavidad.

c) Grupo E-3 :

En este grupo, la peritonitis antes descrita, se volvió crónica de tipo deformante, en la cual las adherencias, engrosamientos y retracciones aumentan de tal forma que la totalidad de los órganos en la cavidad formaba un solo conglomerado sobre el cual se presentaba un proceso de granulación cicatrizal.

1.2 Descripción microscópica del hígado.

Grupo testigo :

Se observó uniformidad de los sinusoides y los cordones hepáticos que presentaron una disposición radial a la vena central. Las células hepáticas estaban perfectamente delimitadas, de forma poligonal con núcleo esférico en posición central, con un nucleolo. Las células Kupffer localizadas en las paredes internas de los sinusoides cerca del borde externo del hepatocito, presentaron tonalidad más oscura.

## Grupos experimentales:

### a) Grupo E-1 :

La citoarquitectura se perdió parcialmente, las células sufrieron un proceso de tumefacción turbia, manifestada por un aumento aparente del volumen celular, reduciendo la luz del sinusoides. Los bordes celulares de los hepatocitos no estaban bien delimitados, su citoplasma se tornó denso y granuloso, y su núcleo se observó denso e hiperchromático.

### b) Grupo E-2 :

Se apreció un cambio más severo que el cuadro anterior caracterizado por que los bordes celulares de los hepatocitos no se podían diferenciar, el citoplasma estaba más pálido, granuloso, y con espacios amorfos, presentando zonas de necrosis. El núcleo de algunas células se observó poco delimitado, con una tonalidad más pálida que el testigo. Encontramos la formación de espacios perinucleares.

### c) Grupo E-3 :

En este último grupo, la citoarquitectura se perdió totalmente, no se apreciaban los bordes intercelulares, las zonas de necrosis eran más notorias. El citoplasma se mostró pálido, disperso, granuloso y amorfo. Los espacios perinucleares eran más evidentes, el núcleo estaba fragmentado en algunas células y en otras no se observaba.

Las células Kupffer no presentaron modificación aparente en ninguno de los grupos.

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

de guerra

## DISCUSIONES



Al hacer las observaciones de las alteraciones provocadas por la administración intraperitoneal de ácido oleico, se pone de manifiesto un daño generalizado de la cavidad peritoneal, y en particular un proceso de afección hepática. Lo cual no concuerda de manera alguna con trabajos previos, en los que se proponía que el ácido oleico no causaba alteraciones a estos niveles luego de 9 semanas de tratamiento, aseveración que se pone en duda con los experimentos y resultados aquí presentados.

Inicialmente se propuso la posibilidad de que el ácido oleico indujera un fenómeno de fibrosis hepática, basado en la magnitud del daño observado anteriormente, bioquímicamente dicha alteración se evidenciaría al realizar la determinación de la concentración sérica de ácido láctico, esto basado en observaciones en pacientes con fibrosis hepática en los que los niveles séricos de ácido láctico aparecen incrementados [10,23]. El ácido láctico, por un lado, inhibe la degradación de prolina, incrementando, por otro lado, la conversión de prolina en hidroxiprolina con el consiguiente incremento en la síntesis de colágena, constituyendo un factor en la producción de fibrosis [17,21,22].

Sin embargo, los resultados de dichas determinaciones no fueron estadísticamente significativos, lo cual podemos correlacionarlo con los resultados histológicos donde no se observa el fenómeno de fibrosis, aunque ciertos indicios de procesos degenerativos nos llevan a pensar en la posibilidad de que al aumentar el tiempo de tratamiento se pueda desarrollar un proceso de fibrosis hepática, por lo cual consideramos prudente realizar estudios posteriores en los que se aumenten las dosis de ácido oleico.

Se determinaron otros parámetros bioquímicos (concentraciones de amino transferasas), que pudieran denotar daño hepático; un incremento en los niveles séricos de TGO es un parámetro poco específico del daño hepático, mientras que los niveles de TGP se caracterizan por una mayor especificidad.

En este estudio, sin embargo, los valores de amino transferasas séricas se vieron ligeramente incrementados, aunque no fueron estadísticamente significativos, ya que, como sabemos, el hígado es un órgano con una alta capacidad regenerativa y funcional, y se requiere un daño excesivo para que pierda estas capacidades, por lo que esto puede influir en los resultados.

El presente trabajo, si bien pone de manifiesto el indiscutible daño provocado por la administración intraperitoneal de ácido oleico, hace patente, así mismo, la inespecificidad aparente de dicho daño, lo cual deja campo abierto a posteriores estudios, así como la realización de más pruebas que vayan aclarando tanto el mecanismo de absorción intraperitoneal de este ácido graso que es uno de los más comunes en los organismos, y que sin embargo, en estado libre y en grandes cantidades causa tanto daño, como el por qué mismo de provocar las afecciones aquí expuestas.

## CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES

- 1 - El ácido oleico administrado intraperitonealmente, induce un evidente daño en la cavidad peritoneal de tipo inespecífico, cuya caracterización requiere de más estudios.
- 2 - A nivel hepático el ácido oleico provoca degeneración celular generalizada, e incluso necrosis.
- 3 - La concentración sérica de ácido láctico no se encontró significativamente alterada, debido probablemente a ser corto el tratamiento y no haberse presentado fibrosis hepática.
- 4 - Por otro lado, los niveles de amino transferasas no resultaron con significancia estadística lo cual no nos permite inferir por el momento algún posible mecanismo del daño hepático provocado.

TABLAS  
Y  
FIGURAS

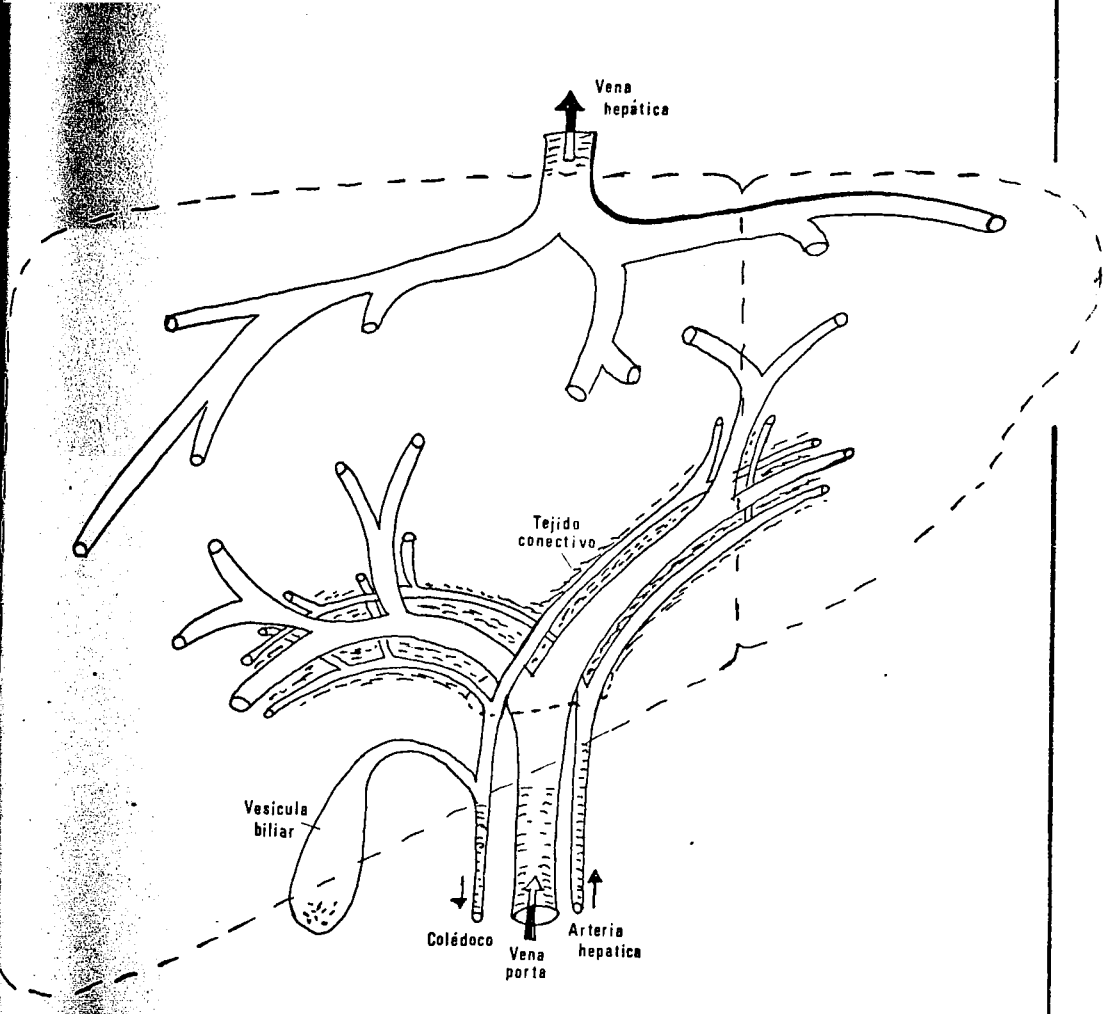
F I G U R A 1

PRINCIPALES VASOS SANGUINEOS  
Y BILIARES DEL HIGADO.

Tomado del libro

"Farmacología, bases bioquímicas  
y patológicas"

W.C. Bowman, M.J. Rand  
Ed. Interamericana (1984)



F I G U R A 2

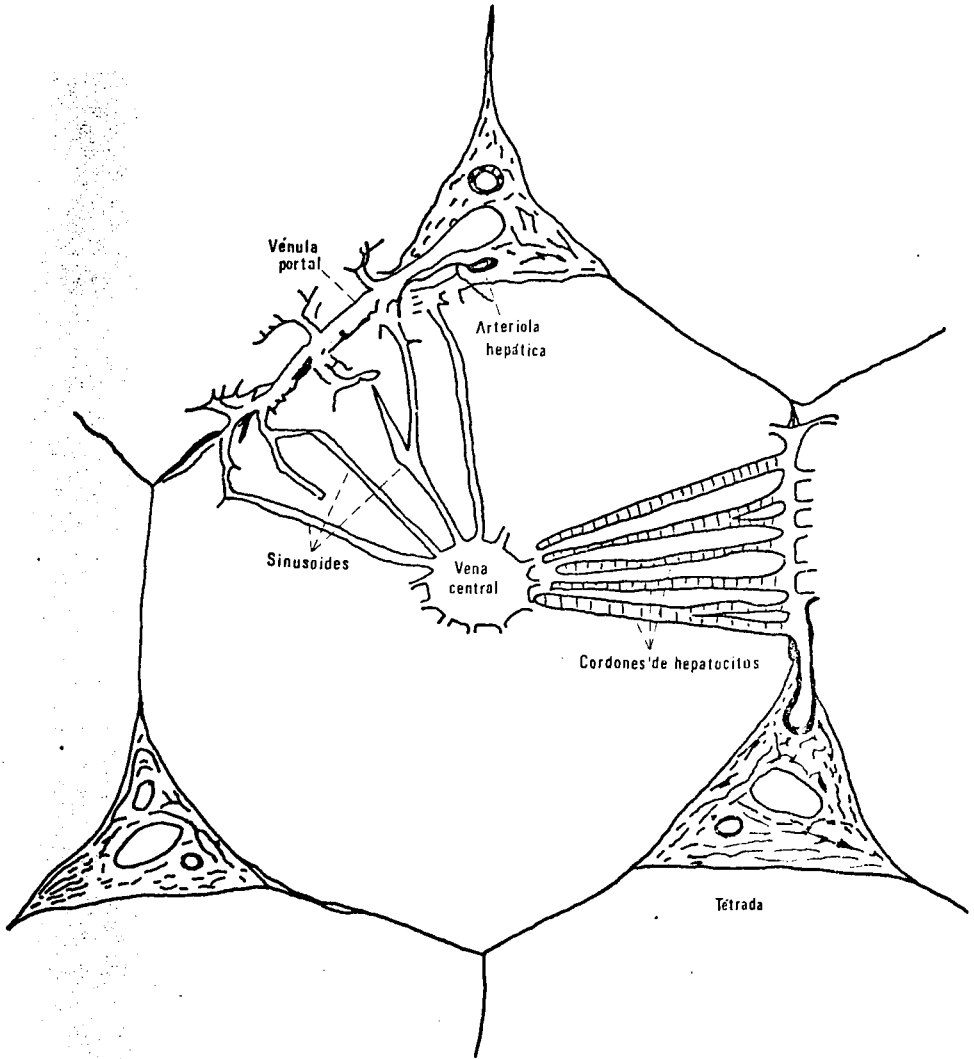
ORGANIZACION ESTRUCTURAL  
DEL LOBULILLO HEPATICO

Tomado del libro

"Farmacología, bases bioquímicas  
y patológicas"

W.C. Bowman, M.J. Rand  
Ed. Interamericana (1984)



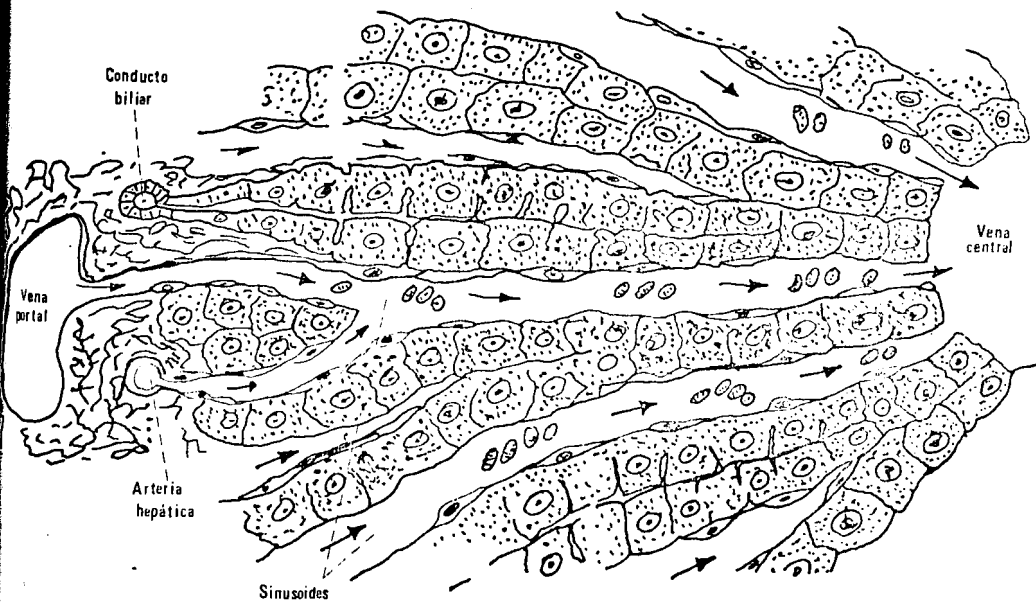


F I G U R A 3

ORGANIZACION ESTRUCTURAL  
DEL LOBULILLO HEPATICO  
(Detalle)

Tomado del libro

"Tratado de Histología"  
A.W. Ham  
Ed. Interamericana (1983)

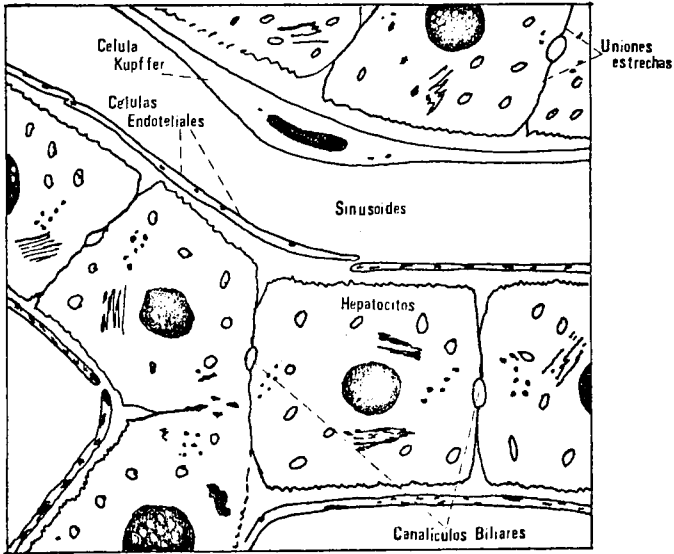


F I G U R A 4

HEPATOCITOS Y SINUSOIDES;  
RELACION.

Tomado del libro

"Farmacología, bases bioquímicas  
y patológicas"  
W.C. Bowman, M.J. Rand  
Ed. Interamericana (1984)



F I G U R A 5

FOTOGRAFIA DE LA CAVIDAD PERITONEAL  
EXPUESTA DE RATA TESTIGO  
TRATADA CON ACEITE MINERAL

En esta fotografia, se observa:

- ( ► ) La membrana peritoneal traslúcida con su brillo característico.
- ( ► ) Organos de aspecto aparentemente normal en cuanto a tamaño, forma, textura y coloración.



F I G U R A 6

FOTOGRAFIA DE LA CAVIDAD PERITONEAL  
EXPUESTA DE RATA EXPERIMENTAL  
TRATADA CON ACIDO OLEICO  
( GRUPO E-1 )

En esta fotografia, se observa:

- ( ▶ ) El peritoneo se torna opaco y blanquecino
- ( → ) Gran cantidad de adherencias, principalmente entre el higado y el diafragma.
- ( ▣ ) El higado esta pálido, contraído y de consistencia dura.
- ( ◊ ) Depósitos grasos de tipo caseiniforme.





F I G U R A 7

FOTOGRAFIA DE LA CAVIDAD PERITONEAL  
EXPUESTA DE RATA EXPERIMENTAL  
TRATADA CON ACIDO OLEICO  
( GRUPO E-2 )

En esta fotografia, se observa:

- ( ▶ ) El peritoneo opaco y blanquecino
- ( ◻ ) Abundante cantidad de material graso, principalmente en la cara anteroposterior del hígado.
- ( ◼ ) El hígado esta pálido, contraído y de consistencia dura.

Además, en la cavidad en general persisten las adherencias.



F I G U R A 8

FOTOGRAFIA DE LA CAVIDAD PERITONEAL  
EXPUESTA DE RATA EXPERIMENTAL  
TRATADA CON ACIDO OLEICO  
( GRUPO E-3 )

En esta fotografia, se observa:

- ( ◻ ) La gran cantidad de adherencias, compactan a los órganos de la cavidad, y forman un solo bloque.
- ( ► ) Procesos de granulación cicatrizal ( nats de fibrina )
- ( ◼ ) El hígado esta fuertemente contraído y de consistencia dura.



F I G U R A 9

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE HIGADO  
DE RATA TESTIGO, TRATADA CON ACEITE MINERAL

Material incluido en paraplast  
y teñido con Hematoxilina y Eosina.  
( Amplificación 1300 X )

En esta fotomicrografía, se observa la estructura normal del  
hígado, donde se puede apreciar:

- (▶) Cordones hepáticos uniformes.
- (▶) Sinusoides uniformes.
- (↘) Células hepáticas poligonales bien delimitadas.
- (⊞) Núcleo esférico con un nucleolo.
- (↘) Células Kupffer de tonalidad más oscura.



F I G U R A 10

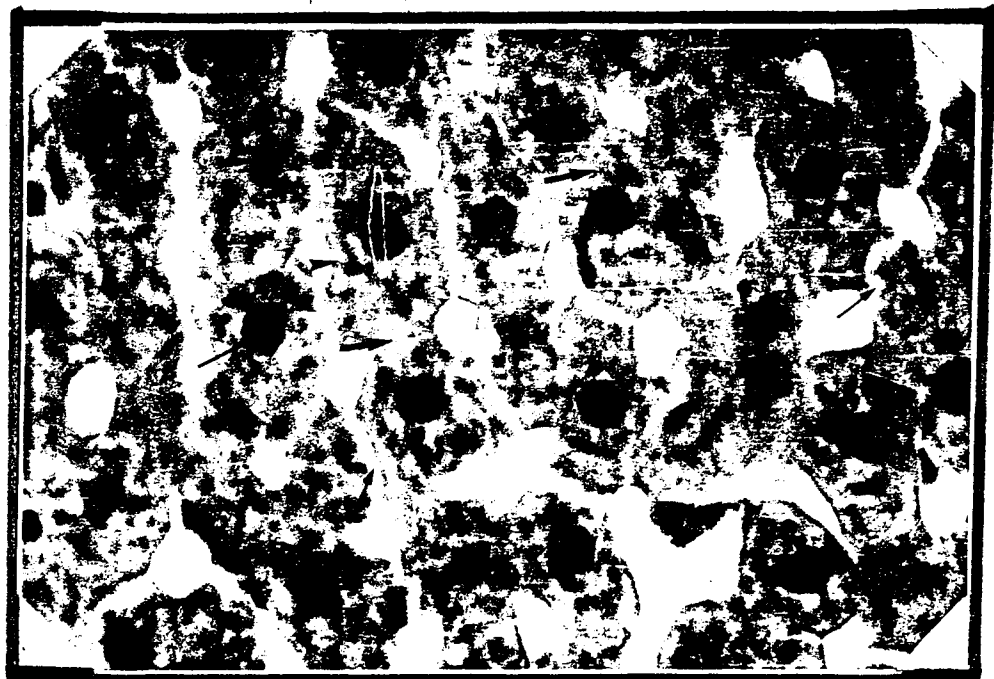
FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE HIGADO  
DE RATA TRATADA CON ACIDO OLEICO  
GRUPO E-1

Material incluido en paraplast  
y teñido con Hematoxilina y Eosina.  
( Amplificación 1300 X )

Esta fotomicrografia muestra:

- (▶) Aumento de volumen celular en hepatocitos.
- (↗) Disminución de la luz de los sinusoides.
- (↘) Bordes intercelulares poco definidos.
- (▶) Citoplasma denso y granuloso.
- (↘) Núcleo denso e hipercromático.
- (0) Células Kupffer aparentemente normales.





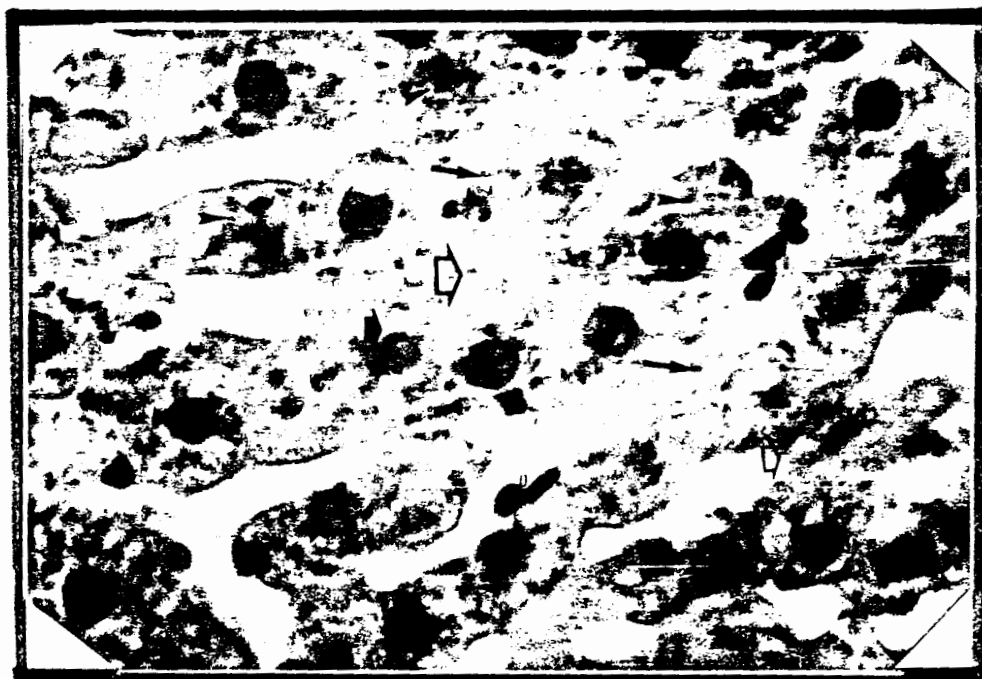
F I G U R A 11

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE HIGADO  
DE RATA TRATADA CON ACIDO OLEICO  
GRUPO E-2

Material incluido en paraplast  
y teñido con Hematoxilina y Eosina.  
( Amplificación 1300 X )

Esta fotomicrografía muestra:

- ( D ) Cordones hepáticos no uniformes.
- ( D ) Pérdida de la citoarquitectura normal.
- ( ▶ ) Citoplasma granuloso y amorfo.
- ( ↗ ) Imágenes necróticas.
- ( ■ ) Espacios amorfos adyacentes al núcleo.
- ( ▼ ) Núcleo difuso.
- ( 0 ) Células Kupffer aparentemente normales.



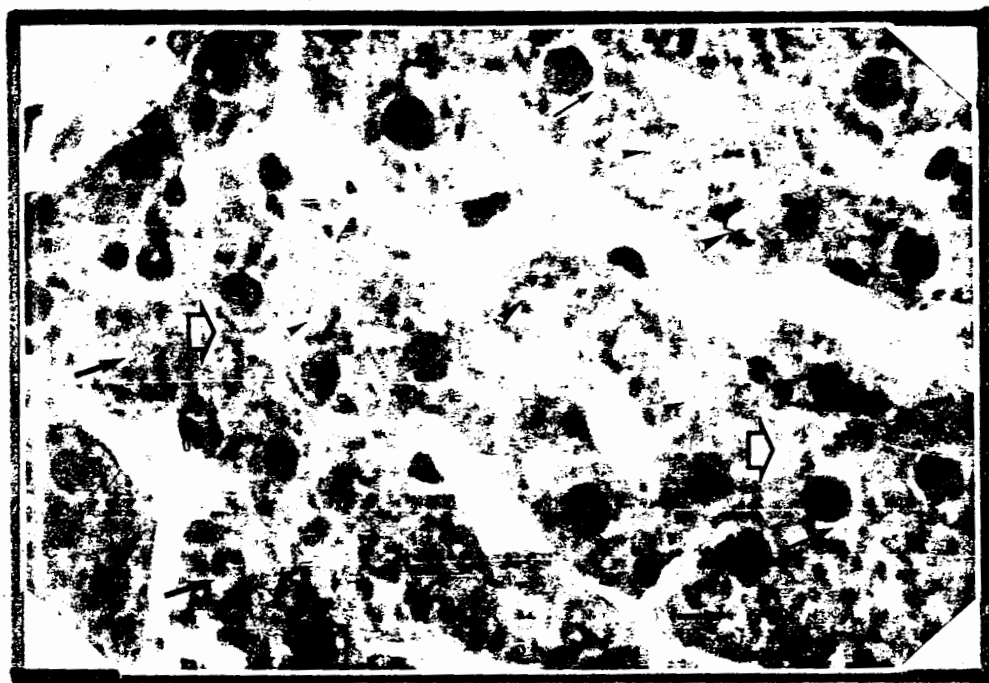
F I G U R A 12

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE HIGADO  
DE RATA TRATADA CON ACIDO OLEICO  
GRUPO E-3

Material incluido en paraplast  
y teñido con Hematoxilina y Eosina.  
( Amplificación 1300 X )

Esta fotomicrografía muestra:

- ( D ) Pérdida total de la citoarquitectura.
- ( ▶ ) Zonas de necrosis abundantes.
- ( ↘ ) Citoplasma granuloso y amorfo.
- ( ↗ ) Espacios perinucleares evidentes.
- ( ▶ ) Cariólisis.
- ( 0 ) Células Kupffer aparentemente normales.



T A B L A 1

SOLUCION " A "  
( LAVADORA )

Amortiguador de fosfatos 0.1 M.

Heparina 1,000 U.I / 1,000 ml de solución.

Procaina 1 gr. / 1,000 ml de solución.

p.H. 7.3 - 7.4

T A B L A 2

SOLUCION " B "  
( FIJADORA )

Amortiguador de fosfatos 0.1 M.

Formaldehido al 10 %

p.H. 7.3 - 7.4

1. ...  
 2. ...  
 3. ...  
 4. ...  
 5. ...  
 6. ...  
 7. ...  
 8. ...  
 9. ...  
 10. ...  
 11. ...  
 12. ...  
 13. ...  
 14. ...  
 15. ...  
 16. ...  
 17. ...  
 18. ...  
 19. ...  
 20. ...  
 21. ...  
 22. ...  
 23. ...  
 24. ...  
 25. ...  
 26. ...  
 27. ...  
 28. ...  
 29. ...  
 30. ...  
 31. ...  
 32. ...  
 33. ...  
 34. ...  
 35. ...  
 36. ...  
 37. ...  
 38. ...  
 39. ...  
 40. ...  
 41. ...  
 42. ...  
 43. ...  
 44. ...  
 45. ...  
 46. ...  
 47. ...  
 48. ...  
 49. ...  
 50. ...  
 51. ...  
 52. ...  
 53. ...  
 54. ...  
 55. ...  
 56. ...  
 57. ...  
 58. ...  
 59. ...  
 60. ...  
 61. ...  
 62. ...  
 63. ...  
 64. ...  
 65. ...  
 66. ...  
 67. ...  
 68. ...  
 69. ...  
 70. ...  
 71. ...  
 72. ...  
 73. ...  
 74. ...  
 75. ...  
 76. ...  
 77. ...  
 78. ...  
 79. ...  
 80. ...  
 81. ...  
 82. ...  
 83. ...  
 84. ...  
 85. ...  
 86. ...  
 87. ...  
 88. ...  
 89. ...  
 90. ...  
 91. ...  
 92. ...  
 93. ...  
 94. ...  
 95. ...  
 96. ...  
 97. ...  
 98. ...  
 99. ...  
 100. ...

## BIBLIOGRAFIA

1. ...  
 2. ...  
 3. ...  
 4. ...  
 5. ...  
 6. ...  
 7. ...  
 8. ...  
 9. ...  
 10. ...  
 11. ...  
 12. ...  
 13. ...  
 14. ...  
 15. ...  
 16. ...  
 17. ...  
 18. ...  
 19. ...  
 20. ...  
 21. ...  
 22. ...  
 23. ...  
 24. ...  
 25. ...  
 26. ...  
 27. ...  
 28. ...  
 29. ...  
 30. ...  
 31. ...  
 32. ...  
 33. ...  
 34. ...  
 35. ...  
 36. ...  
 37. ...  
 38. ...  
 39. ...  
 40. ...  
 41. ...  
 42. ...  
 43. ...  
 44. ...  
 45. ...  
 46. ...  
 47. ...  
 48. ...  
 49. ...  
 50. ...  
 51. ...  
 52. ...  
 53. ...  
 54. ...  
 55. ...  
 56. ...  
 57. ...  
 58. ...  
 59. ...  
 60. ...  
 61. ...  
 62. ...  
 63. ...  
 64. ...  
 65. ...  
 66. ...  
 67. ...  
 68. ...  
 69. ...  
 70. ...  
 71. ...  
 72. ...  
 73. ...  
 74. ...  
 75. ...  
 76. ...  
 77. ...  
 78. ...  
 79. ...  
 80. ...  
 81. ...  
 82. ...  
 83. ...  
 84. ...  
 85. ...  
 86. ...  
 87. ...  
 88. ...  
 89. ...  
 90. ...  
 91. ...  
 92. ...  
 93. ...  
 94. ...  
 95. ...  
 96. ...  
 97. ...  
 98. ...  
 99. ...  
 100. ...



## BIBLIOGRAFIA

- 1- Balint J.A. et al. Ileal uptake of oleic acid: evidence for adaptative response to high fat feeding. *Am J Clin Nutr* 1980 33:2276-2280.
- 2- Bowman y Rand. *Farmacología*. 2a. Edición. Ed. Interamericana México D.F. (Mex) 1984.
- 3- Burton F.D. et al. Oleic acid-induced lung injure in the rat. *Am J Pathol* 1981, 103:376-383.
- 4- Cerbón-Ambriz J. et al. Lactate and pyruvate increase the incorporation of [3H] proline into collagen [3H] hydroxyproline in liver slices of CCl4 cirrhotic rats. *Laboratory Investigation* 1987, 57 (4):392-396.
- 5- Ehrinpreis M., Gianbrone M., Rojkind M. Liver proline, oxidase activity and collagen synthesis in rats with cirrhosis induced by carbon tetrachloride. *Biochem. Biophys. Acta* (1980).
- 6- Flores-Alvarado J. Datos no publicados.
- 7- Gannong W. T. *Manual de fisiología médica*. 7a. Edición El manual moderno México D.F. (Mex) 1979.
- 8- Guyton A. C. *Tratado de fisiología médica*. 5a. Edición. Ed. Interamericana México D.F. (Mex) 1979.
- 9- Ham A.W. *Histología*. 7a. Edición. Ed. Interamericana México D.F. (Mex) 1975.
- 10- Kerstenobich D., Garsia Tsao F., Alvarez Saldaña., Rojkind M. Relationship between blood lactic acid and serum proline in alcoholic liver cirrhosis. *Gastroenterology* 80, 1012-15. (1981).
- 11- Kleppe B.B., et al. Triglyceride accumulation and very low density lipoprotein secretion by rat and goat hepatocytes in vitro. *J. Dairy Sci.* 71 (7): 1813-22 (1988).
- 12- Kummel L. Mutual additivity of hormonal and non-hormonal stimulation of gluconeogénesis. *Biochem. Int.* 14 (4):659-66 (1987).
- 13- Leeson T.S. *Histología*. 2a Edición. Interamericana. México D.F. (Mex) 1970.
- 14- Lenhinger A. *Bioquímica*. 2a. Edición. Ed. Omega Barcelona, (Esp) 1984.

- 15- Merk Index. 10a Edición. Ed. Merck Co. Inc. New York. (U.S.A) 1983.
- 16- Montgomery R. Biochemistry 2a. Edición. Ed. Mosby. St. Louis (E.U.A) 1977.
- 17- Okazaki I. Collagenase activity in experimental hepatic fibrosis. Nature 252-1: 49-50 (1974).
- 18- Osol A. United States Dispensatory. 27 th edition. Lippincott. U.S.A. 1973.
- 19- Plummer T. D. Bioquímica práctica. 2a. Edición. Mac Graw Hill. Bogotá (Col) 1981.
- 20- Robbins S. L. Tratado de patología. 3a. Edición. Ed. Interamericana México D. F. (Mex) 1968.
- 21- Rojkind M. Collagenase and reversible hepatic fibrosis in the rat. Gastroenterology 75 : 944 (1988).
- 22- Rojkind, M., Kershenovich, D. Hepatic fibrosis. Clin. Gastroenterology 10 (3): 737-54. (1981).
- 23- Rojkind, M. Fibrogenesis in the liver; course on alcoholism and alcohol induced liver disease. The Am. Assoc. for the study of the liver diseases. Chicago Illinois, U.S.A. pp 272-310. (1981).
- 24- Rosenberg M. D., et al. Dietary saturated fatty acids and blood cholesterol. N.E. J. of Med. 318-19:1270-71. (1988).
- 25- Runnells R.A. Principios de patología veterinaria. 1a Edición en español. México D.F. (Mex) 1982.
- 26- Salam H. W., Wilcox G. H., Heimberg M. Effects of oleic acid on the biosynthesis of lipoprotein apoproteins and distribution into very-low-density lipoprotein by the isolated perfused rat liver. Biochem. J. 251: 809-816 (1988).
- 27- Sum P. Lee. et al. Oleic acid-induced cholelithiasis in rabbits. Am J Pathol 1986, 124:18-24.
- 28- Wells T.A.G. The rat; a dissection manual. 1a. Edición. Dover Publications, Inc. New York. U.S.A. 1964.
- 29- Wojtczak L., et al. Effect of oleate on the apparent Km of monoamine oxidase and the amount of membrane-bound hexokinase in isolated rat. Mol. Cell. Biochem. 79(1):25-30 (1988).



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente .....  
Número 074/89 .....

SRITA. GRACIELA GUDIÑO CABRERA  
P R E S E N T E . \_

*Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el -  
tema de Tesis "EFECTO TOXICO DEL ACIDO OLEICO EN EL HIGADO DE LA RATA"-  
para obtener la Licenciatura en Biología.*

*Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptado como -  
Director de dicha Tesis el M.en C. Genaro Gabriel Ortiz.*

A T E N T A M E N T E  
"PIENSA Y TRABAJA"  
Guadalajara, Jal., Enero 19 de 1989.

EL DIRECTOR

DR. CARLOS ASTENGO OSUNA



**FACULTAD DE CIENCIAS**

EL SECRETARIO

ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS CARDENAS.

c.c.p. El M.en C. Genaro Gabriel Ortiz, Director de Tesis.-Pte.  
c.c.p. El expediente de la alumna.

'mjsd

8 de Mayo de 1989.

Impulsos de los Maestros.  
Dirección de la Facultad de Ciencias  
Universidad de Guadalajara

P r e s e n t e.

Estimado Ing. Adolfo Espinosa:

Por medio de la presente comunico a usted que la C. Graciela Gudino Cabrera, pasante de la licenciatura en Biología con el número de registro 61307452 ha concluido satisfactoriamente el trabajo de tesis titulado: EFECTO TOXICO DEL ACIDO OLEICO EN EL HIGADO DE LA RATA. Estudio histopatológico y bioquímico efectuado en la Facultad de Ciencias, la Facultad de Medicina y la Unidad de Investigaciones Biomédicas de Occidente del IMSS.

Así mismo le informo que he revisado el manuscrito de la tesis, y considero que cumple con los requisitos establecidos por la facultad a su digno cargo.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

M. en C. Genaro Gabriel Ortiz.

Director de tesis