

EFFECTOS HISTOPATOLÓGICOS EN LOS PULMONES DE RATAS EXPUESTAS A VAPORES DE METIL-TER-BUTIL-ÉTER

*Nora Rivero Ramírez
Carlos Arroyo Rojas
Ana L. Miramontes
Ana María Gil
Martha García Burciaga*
Eduardo Madrigal Bujaidar*

RESUMEN

El metil-ter-butil éter (MTBE) es un aditivo de la gasolina y disolvente de los cálculos vesiculares. En este trabajo se determinó su capacidad para producir alteraciones histológicas pulmonares en rata. Los animales se trataron con MTBE mediante un régimen de inhalación diario de 15 minutos, durante dos semanas. El tejido pulmonar del grupo expuesto y del grupo control se tiñeron con las técnicas de hematoxilina-eosina, tricrómica de Masson, azul de Prusia y café de Bismarck. Los resultados indicaron alta incidencia de vasocongestión, aumento en la celularidad de los alveolos pulmonares y elevación en el número de células cebadas. Los datos anteriores sugieren la conveniencia de continuar los estudios sobre la toxicidad del MTBE con un diseño de tipo crónico.

INTRODUCCIÓN

El metil-ter-butil-éter (MTBE) es un compuesto que pertenece al grupo de los alquil éteres y que se prepara sintéticamente a partir de metanol y ter-butil alcohol o, alternativamente, del isobutileno y el metanol. La composición típica de este compuesto se presenta en la tabla 1.¹ Es un líquido inflamable, incoloro, de olor característico, de baja viscosidad, ligeramente soluble en agua

pero miscible en los hidrocarburos del tipo de las gasolinas y que se caracteriza por desprender vapores a temperatura ambiente. Sus propiedades fisicoquímicas se encuentran resumidas en la tabla 2.²

En la actualidad el MTBE se ha vuelto importante para el hombre por sus dos funciones principales. La primera se refiere a su acción como disolvente de cálculos de colesterol que se encuentran en la vesícula y el conducto biliar, ac-

* Departamento de Morfología y Farmacia. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

Correspondencia: Eduardo Madrigal Bujaidar. Laboratorio de Genética, ENCB, IPN. Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Casco de Sto. Tomás C.P. 11340. Tel. 729 63 00 ext. 62389. Fax: 341 22 15.

Tabla 1. Composición del metil-ter-butil-éter.

<i>Compuestos</i>	<i>%</i>
Metil-ter-butil-éter	97.5
Diidobutileno, triisobutileno y T-butilalcohol	0.6
Metanol	0.2
Butanos	1.0
Pentanos	0.4
Otros	0.3
Contenido de agua	0.05

tividad en la que el éxito del compuesto ha llegado hasta un 96% de efectividad^{3,4,5,6} y la segunda acción, pero no menos importante, consiste en ser un agente que incrementa el octanaje de las gasolinas y que en los últimos años ha sustituido al tetraetilo de plomo como aditivo de las mismas. En México, el compuesto se usa regularmente en la gasolina *Magna Sin* a partir de 1990, para vehículos que tienen convertidor catalítico con especificaciones similares a las del mercado en Estados Unidos de Norteamérica.^{7,8}

Con respecto a estudios de toxicidad, el MTBE ha mostrado que genera mortalidad en el 100% de las ratas a las que se les administra por vía intraperitoneal este compuesto a concentración de 0.2 ml/kg (muerte generalmente ocasionada por una falla cardiorrespiratoria), 17% de mortalidad con inyección endovenosa y 59% mediante inyección intrahepática; los animales sobrevivientes mostraron alteraciones como

necrosis en el área de la inyección, hemorragias, congestión y edema.⁹ Estudios de toxicidad aguda en el hombre y animales experimentales han mostrado diversas alteraciones en los aparatos respiratorio, digestivo, ocular y en la piel. Los principales síntomas y signos se refieren a náuseas, bronquitis, depresión respiratoria, daño hepático, debilidad muscular, eritema y conjuntivitis.^{10,11} La administración oral o por inhalación en animales de experimentación ha mostrado que el MTBE tiene propiedades sedativas y anestésicas, lo que sugiere un efecto depresivo sobre el sistema nervioso central.²

En vista del amplio uso de este compuesto, es necesario realizar investigaciones para valorar con precisión el riesgo que pueden tener las poblaciones expuestas. Como se ha demostrado que el MTBE desprende vapores, una de las áreas de estudio prioritarias corresponde a su efecto sobre los pulmones, órganos cuya función primordial se refiere al intercambio de gases. Por tal motivo, el objeto de esta investigación fue determinar si los vapores del MTBE producen alteraciones histopatológicas en el tejido pulmonar de ratas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio se utilizaron 25 ratas machos Wistar, con peso promedio de 225 g. Los animales se separaron en dos grupos. El primero, conformado por 10 ratas y que sirvió como lote testigo, se colocó en jaulas de polietileno y se le proporcionó alimento (*Purina*) y agua *ad libitum* durante el tiempo total del experimento (dos se-

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas del metil-ter-butil-éter.

Presión de vapor Reid Kpa (Psi)	53.8(7.8)
Gravedad APT a 15.5°C	58.89
Gravedad específica a 15.5°C	0.743
Densidad g/cm ₃ (Lb/Gl) a 15.5°C	0.742 (6.2)
Temperatura de autoignición °C	425.0(797)
Peso molecular	88.0
Indice de refracción a 20°C	1.3694
Solubilidad del agua en MTBE a 20°C (% peso)	1.4
Solubilidad del MTBE en agua a 20°C (% peso)	4.3
Punto de ebullición a 1 atm. °C	55.0
Punto de congelación °C	108.9

manas). El segundo grupo, formado por 15 animales, se sujetó a un régimen de inhalación del MTBE (15 minutos diarios durante dos semanas). La inhalación se efectuó en una cámara de polietileno (0.95 × 0.3 × 0.3 m) herméticamente sellada y provista con 2 ml del compuesto.

Doce horas después de haber terminado las dos semanas de exposición al MTBE, los animales se sacrificaron con cloroformo y se les extrajeron los pulmones, los cuales se fijaron en solución de formol al 10%. Fragmentos de este tejido se procesaron por la técnica histológica usual que comprende los procesos de deshidratación, transparentación e inclusión en parafina, hasta obtener cortes del tejido de 3-5 micras de espesor. Finalmente, la tinción de los cortes histológicos se realizó con las siguientes técnicas: hematoxilina-eosina para el examen topográfico, tricrómica de Masson para la observación de fibras colágenas y café de Bismark para detectar las células cebadas.^{12,13,14}

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos respecto a la topografía microscópica se muestran en las tablas 3 y 4. Con relación a las ratas control se observó una respuesta inesperada sobre la incidencia de áreas hemorrágicas, que se debió probablemente a mayor susceptibilidad de este grupo de animales al efecto del cloroformo en el momento de la muerte, ya que dicho anestésico produce parálisis respiratoria con irregularidades cardiacas que pueden provocar vasodilatación y extravasación de elementos sanguíneos del parénquima pulmonar.^{15,16} Los otros parámetros considerados, como la vasocongestión y la hiper celularidad se observaron escasamente. Por lo que se refiere a los animales expuestos al MTBE, se observó alta incidencia de vasocongestión así como de zonas nodulares que se caracterizaron por un infiltrado de leucocitos polimorfonucleares de tipo neutrófilo, los que se orientaron hacia la zona central

Tabla 3. Cambios histológicos pulmonares observados en ratas tratadas con metil-ter-butil-éter (MTBE).

	Controles	%	Tratadas	%
Hemorragia	8	80	5	33.3
Vasocongestión	2	20	10	66.6
Hiper celularidad	1	10	5	33.3
Zonas nodulares	0	0	9	60.0
Fibrosis	0	0	4	26.6

Observaciones efectuadas con las técnicas de hematoxilina-eosina (10× y 40×).

10 ratas control y 15 ratas tratadas con MTBE.

de la lesión, además, en la periferia de la lesión se observó acumulación de macrófagos. También fue notable la hiper celularidad presente en las paredes alveolares y en algunas áreas parenquimatosas, de tal manera que de cinco animales con la alteración, dos de ellos presentaron un cuadro típico de hiperplasia. La fibrosis es una reducción anormal de la relación parénquimal estroma, o por una combinación de ambos procesos. En este estudio se observaron cuatro ratas con aumento relativo en la proporción de tejido

fibroso con respecto a las células parenquimatosas, seguramente con actividad secundaria al trastorno inflamatorio.

La frecuencia de células cebadas se determinó en todo el corte histológico, habiéndose establecido una media de 45 células para todo el grupo testigo, media que se obtuvo aun con exceso de células cebadas observado en una sola rata (104 células), que produjo la desviación hacia una frecuencia más alta (tabla 5); sin embargo, en los animales tratados con el MTBE el incremento

Tabla 4. Cambios histológicos en el pulmón de ratas expuestas a vapores de metil-ter-butil-éter. Técnica hematoxilina eosina.

Histología	Número progresivo de ratas expuestas															%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Vasocongestión	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	66.6
Zonas nodulares	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	60
Hemorragia	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	33.3
Hiper celularidad	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	33.3
Fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	26.6

de estas células fue altamente significativo, con una media de 150 células cebadas, lo que representa más de tres veces el nivel basal (tablas 6 y 7).

Como era de esperarse, en las fibras colágenas no se presentaron alteraciones significativas en el grupo tratado con respecto al testigo, y con relación al número de macrófagos por saco alveolar, éste se ubicó entre siete y nueve para ambos grupos, aun cuando podría suponerse un incremento en el grupo tratado. Esta observación parece relacionarse con alteraciones histológicas cuyo origen es reciente.

Las alteraciones que produjo el MTBE sobre vasocongestión, hiper celularidad y aumento de células cebadas constituyen un cuadro caracte-

rístico de inflamación aguda. En este aspecto, es conveniente señalar que en las células cebadas se consideran los agentes causales de la fase transitoria inmediata de la respuesta inflamatoria, ya que contienen aminas vasoactivas, como la histamina, que actúa principalmente en las venas, produciendo vasodilatación y aumento en la permeabilidad vascular, además, la conglomeración de leucocitos es típica de estos procesos por su capacidad fagocítica; sin embargo, el no haber encontrado un número considerable de ma-

Tabla 6. Número de células cebadas en el pulmón de ratas expuestas a vapores de metil-ter-butil-éter. Técnica de café de Bismarck.**Tabla 5.** Número de células cebadas en cortes de pulmón de ratas no expuestas a metil-ter-butil-éter. Técnica de café de Bismarck.

Ratas Núm. progresivo	Núm. de células cebadas
1	15
2	65
3	17
4	19
5	104
6	79
7	4
8	22
9	79
10	41
	$\bar{X} = 45$

Ratas tratadas Núm. progresivo	Núm. de células cebadas
1	73
2	89
3	78
4	69
5	270
6	79
7	121
8	65
9	82
10	20
11	250
12	124
13	7
14	61
15	111
	$\bar{X} = 150$

Tabla 7. Presencia de células cebadas en el tejido pulmonar de ratas expuestas a vapores de metil-ter-butyl-éter (MTBE).

<i>Animales</i>	<i>Núm. de células media</i>
Controles	45
Tratados	150

Observación efectuada con la técnica café de Bismarck (10× y 40×).
10 ratas control y 15 ratones tratados con MTBE.

crófagos sugiere inflamación reciente, ya que estas células se originan de los monocitos y con el tiempo sustituyen a los neutrófilos.¹⁷ En este proceso también encaja el aumento de celularidad, ya que dicho fenómeno puede ser consecuencia del efecto irritativo inducido por el MTBE. De acuerdo a la secuencia de los cambios histológicos descritos, podemos considerar que los animales con fibrosis se encontraban en etapa de evolución que sugiere un cuadro de reparación tisular.

El pulmón es un órgano que responde usualmente a estímulos irritativos con cambios histológicos, hecho que se ha observado con sustancias como el dióxido de nitrógeno, el ozono y los vapores de ácido sulfúrico.¹⁸ Sin embargo, la respuesta depende de la concentración y del lapso de exposición, y es específica para cada sustancia. El no haber detectado cambios en las fibras musculares y colágenas sugiere que el tejido aún está en etapa reversible y requiere mayor tiempo de exposición al agente para que la expresión del daño sea más grave. Sin embargo, si se considera que los resultados se refieren a sólo dos semanas de inhalación por un breve periodo diario, es factible suponer la presencia de alteraciones celulares más serias e irreversibles frente a la exposición continua y con mayor tiempo de duración.

Los resultados expuestos demuestran que la exposición al MTBE puede ocasionar daño a la salud, y son congruentes con lo observado por Canaway y col.,¹⁰ quienes al tratar ratas con distintas dosis del agente durante nueve días, observaron efectos anestésicos, irritación nasal,

aumento hepático y congestión e infiltración en el tracto digestivo y respiratorio. Los mismos autores también determinaron que ratones tratados durante la preñez con altas concentraciones del agente (4,000-8,000 ppm) tuvieron descendencia con disminución en el peso fetal y mostraron aumento en el índice de individuos con paladar héndido.

Los resultados de la presente investigación sugieren la conveniencia de extender los estudios sobre el compuesto, especialmente al considerar el riesgo a la salud que pueden tener trabajadores relacionados con el agente, como los conductores de transporte de gasolina, empleados de las gasolineras, personal de limpieza de carros tanque y trabajadores en oleoductos y refinerías.

SUMMARY

Methyl-ter-butyl-ether (MTBE) is a gasoline additive and a solvent for vesicular calculus. In this work it was determined its capacity to produce pulmonary histological alterations in rat. The animals were treated with MTBE according an inhalation regime of 15 min each day during two weeks. The pulmonary tissue of both, the exposed and control groups, were stained with the following techniques: hematoxylin-eosin, Masson, Prussian blue, and Bismark brown. The results showed a high incidence of blood vessels congestion, increase in alveolar cellularity, and an elevation in the number of mast cells. These data suggest the convenience to extend studies about MTBE toxicity under a longitudinal type design.

BIBLIOGRAFÍA

1. *Recomendaciones de seguridad para el manejo, transporte y almacenamiento del metil-ter-butyl-eter (MTBE)*. 1991. Editorial del Instituto Mexicano del Petróleo. México, D.F.
2. Von Burg, R. 1992. "Methyl ter-butyl-ether". *J. Appl. Toxicol.*, 12: 73-74.
3. Bruckstein, A.H. 1990. "Surgical management of cholelithiasis". *Arch. Intern. Med.*, 150: 960-964.
4. Leuschner, V.; Hellstem, A.; Schmidt, R.; Fisher, H.; Guzdutuna, S.; Kubner, R. and

- Leuschner, M. 1991. "Gallstone dissolution with methyl ter-butyl-ether in 120 patients". *Efficacy and Safety. Dig. Dis. Sci.*, **36**: 193-196.
5. Murray, W.R.; Laferia, G. and Fullarton, G.M. 1988. "Choledocholithiasis- *in vivo* stone dissolution using methyl tertiary butyl ether (MTBE)". *Gut*, **29**: 143-145.
 6. Neoptolemus, J.P.; Hall, C.O'Connor, H.J.; Murray, W.R. and Carr-Locke, D.L. 1990. "Methyl ter-butyl-ether for treating bile duct stones. The British experience". *Br. J. Surg.* **77**: 32-35
 7. *Comportamiento de las nuevas gasolinas plus de Petróleos Mexicanos* 1987. Editorial del Instituto Mexicano del Petróleo. México, D.F.
 8. Patric, R.D. 1994. *Toxic air pollution handbook*. Van Nostrand Reinhold USA.
 9. Akimoto, R.; Moosa, A.R.; Hofman, A.F. and Wahlstrom, H.E. 1992. Systemic and local toxicity in the rat of methyl ter-butyl ether: a gallstone dissolution agent". *J. Surg. Res.*, **53**: 572-577.
 10. Conaway, C.C.; Schroeder, R.E. and Snyder, N. 1985. Teratology evaluation of methyl tertiary butyl ether in rats and mice. *Toxicol. Environ. Health*, **16**: 797-809.
 11. *Enfermedades Ocupacionales. Guía para su diagnóstico*. 1986 Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica No. 480.
 12. Everson Pearse, A.G. 1972. *Histochemistry. Theoretical and applied V 2*. Churchill Livingstone, London.
 13. Sheehan, D.C. and Hrapchak, B. 1980. *Theory and practice of histotechnology*. Batelle Press, USA.
 14. Estrada, F.E.; Peralta, Z.L. y Rivas, M.P. 1982. *Manual de Técnicas Histológicas*. AGT México, D.F.
 15. Amdur, O.M.; Doull, J. and Klaasen, D.C. 1991. *Toxicology: The Basic Science of Poison*. 4a. ed. Pargamon Press Inc. and Maxwell House. News York.
 16. Dreisbach, H.R. 1984. *Manual de Toxicología Clínica. Prevención, diagnóstico y tratamiento*. El Manual Moderno México, D.F. 5a. ed.
 17. Chandrasoma, P. y Taylor, R.C. 1994. *Patología general*. El Manual Moderno. México, D.F.
 18. *Criterios de Salud Ambiental No. 6. Principios y métodos para evaluar la toxicidad de las sustancias químicas, parte I*. 1980. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica No. 402.