

18
Reg



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**EVALUACION DE LA FRECUENCIA DE MICRONUCLEOS
EN CELULAS UROEPITELIALES DE INDIVIDUOS
CON EXPOSICION AMBIENTAL A ARSENICO**

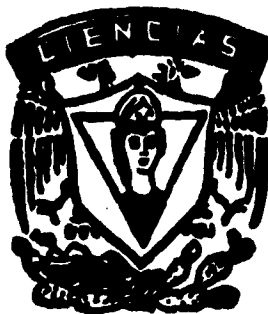
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A:

JULIANA TOMASA BLAS VARGAS



MEXICO, D. F.

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

1995

FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

EVALUACION DE LA FRECUENCIA DE MICRONUCLEOS EN CELULAS UROEPITELIALES DE
INDIVIDUOS CON EXPOSICION AMBIENTAL A ARSENICO.
realizado por BLAS VARGAS JULIANA TOMASA.

con número de cuenta 8050123-5 , pasante de la carrera de BIOLOGIA.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis	DRA.	MARIA EUGENIA GONSEBATT BONAPARTE
Propietario	DRA.	MARtha PATRICIA OSTROSKY SHEJET
Propietario	DRA.	PATRICIA RAMOS MORALES
Suplente	DRA.	REGINA DORINDA MONTERO MONTOYA
Suplente	DRA.	FACULTAD DE CIENCIAS

VLMA

[Signature]

[Signature]
[Signature]


Facultad de Biología
**COORDINACION GENERAL
DE BIOLOGIA**

**Este Trabajo se realizó en el Departamento de Genética y Toxicología Ambiental del
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, bajo la dirección de la Dra María Eugenia
Gonsebatt Bonaparte**

AGRADECIMIENTOS

A la Dra Patricia Ostrosky-Wegman, por la gran oportunidad, enseñanza y apoyo que me ha brindado.

A la Dra María Eugenia Gonsbatt Bonaparte por sus enseñanzas, sugerencias e interés mostrado durante el desarrollo de este trabajo

A los miembros del Jurado Examinador:

Dra Regina Montero Montoya, Dra Patricia Ramos Morales, Dra María Luisa Fanjul por la revisión y comentarios de este trabajo.

A la Comisión Nacional Mixta de Becas del S.N.T.S.S.

A mis compañeros de trabajo: H.G.Z. # 1 "Gabriel Mancera" I.M.S.S., Departamento de Anatomía Patológica por sus aportaciones y apoyo, muy especialmente a: Virginia, Maribel y Salvador.

A mis compañeros del Hospital de Cardiología C.M.N.S. XXI I.M.S.S., Laboratorio Clínico por todo lo que aprendí a su lado.

A mis compañeros del Departamento de Genética y Toxicología Ambiental: Anita, Regina, Paty Ramírez, Paty Guzmán, Aurorita, Guillermo, Miriam, Luis, Silvia, Esperanza, Daniel, Mahara, Monserratt, Angélica, Libia, Emilio, Salomón y Vicky por todo lo que hemos compartido.

INDICE

	PAGINA
RESUMEN	4
INTRODUCCION	5
Mecanismo de acción de los Carcinógenos	7
Indicadores o Marcadores biológicos	9
Marcadores de exposición	9
Marcadores de efecto	10
Marcadores de susceptibilidad	10
El arsénico inorgánico como Carcinógeno Ambiental	14
Localización	14
Absorción, metabolismo y toxicidad	14
Exposición por ingestión	19
El Tejido Epitelial	22
Epitelios de revestimiento	22
Epitelios glandulares	22
El Sistema Renal	27
Histología del tracto urinario y sus componentes celulares	27
Los micronúcleos como marcadores de efecto	35
PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO	39
HIPOTESIS	39
OBJETIVOS	39
Objetivo general	39
Objetivos particulares	39
MATERIALES Y METODOS	40
Elaboración de las preparaciones	40
Método de tinción	40
Evaluación microscópica	40
Estudio de exposición a arsénico	41
Análisis citopatológico	42
Determinación de arsénico en muestras de orina y agua	43
Análisis de los datos	43
RESULTADOS	44
DISCUSION	47
CONCLUSIONES	49
PERSPECTIVAS	49
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	50

RESUMEN

La posibilidad de identificar los efectos tempranos que produce el contacto o exposición a agentes tóxicos en los seres vivos, antes que estos cambios sean irreversibles, constituye un tema prioritario de la investigación en Genética Toxicológica. Mediante la evaluación de indicadores de daño genético se puede obtener información importante para realizar una estimación del riesgo para la salud, así como de los mecanismos por los cuales él o los agentes ejercen su acción. En este trabajo se discute la importancia de evaluar este tipo de efectos cuando existe exposición a carcinógenos y se presentan las formas más frecuentes de exposición a uno de ellos, el arsénico. Se define el concepto de marcadores o indicadores biológicos y se particulariza en los tejidos epiteliales, tejidos blanco en la exposición a agentes tóxicos. Se presentan los resultados obtenidos al evaluar daño genético y citotóxico en un grupo de individuos expuestos a arsénico, encontrándose un incremento de CMN en el grupo de expuestos a niveles por encima de los 0.300 mg / L. Los hombres mostraron ser más sensibles que las mujeres y el análisis citológico nos permitió evaluar desde atipias celulares ligeras hasta una displasia severa de células transicionales.

INTRODUCCION

El desarrollo científico y tecnológico ha mejorado indudablemente las condiciones de vida de nuestra especie, pero al mismo tiempo ha producido severos cambios en el medio ambiente. Se estima que cada año se producen aproximadamente 260 millones de toneladas de desechos tóxicos solamente en los Estados Unidos (Simmons y cols., 1988). El origen de la mayoría de estas sustancias tóxicas se halla en los procesos industriales. La contaminación ambiental generada en el ambiente de trabajo, por el uso extensivo de fertilizantes y plaguicidas en la agricultura, y por los desechos tóxicos generados por la industria química, médica y los desechos radioactivos, representan un riesgo para la salud de las comunidades en contacto con ellos (Sullivan y Krieger, 1992). Es por ello que reconocer la presencia e identidad de los agentes peligrosos en el ambiente y el alcance o el nivel de la exposición a ellos, es extremadamente importante para poder estudiar los efectos que estos tengan en la salud humana (WHO, 1985).

Tomatis (1990) menciona que el 90% de los diferentes tipos de cáncer conocidos se originan por exposición ambiental u ocupacional. Los carcinógenos así originados, llamados carcinógenos químicos, son las sustancias tóxicas que producen cáncer en animales o en seres humanos. Estos agentes son absorbidos, activados y metabolizados como cualquier otra sustancia química o cualquier otra toxina, sin embargo actúan de manera específica. Los carcinógenos químicos tienen efectos acumulativos y tardíos, las exposiciones crónicas a pequeñas cantidades son efectivas y su acción a nivel de los ácidos nucleicos es también específica (IARC, 1987).

Existen procesos industriales que están asociados fuertemente con el desarrollo de cáncer, a pesar de que el agente causal no se haya identificado, ellos incluyen la manufactura de aminas (cáncer de vejiga), colorantes (cáncer de pulmón), cadmio (cáncer de próstata), arsénico (cáncer de pulmón), la minería de hematita (cáncer de pulmón), níquel (cáncer de cavidad nasal y de pulmón) y la industria hulera (cáncer de pulmón) (Piantadosi y Sullivan, 1992).

La Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) considera que los agentes y procesos enlistados en la Tabla 1 resultan carcinogénicos para el ser humano (IARC, 1987). Esta información ha sido obtenida a partir de los resultados de estudios epidemiológicos en poblaciones humanas expuestas y de estudios en animales de laboratorio.

Tabla 1. AGENTES QUIMICOS Y PROCESOS CARCINOGENICOS PARA EL HOMBRE (según la IARC)

Aceites minerales, sin tratar y levemente tratados
Aflatoxinas
Alcohol isopropílico, manufactura de, proceso fuertemente ácido
Aluminio, la producción de
4-Aminobifenil
Anticonceptivos orales, combinación ¹
Anticonceptivos orales, secuenciales ¹
Arsénico y productos arsenicales*
Asbestos
Auramina, la manufactura de
Azatioprina
Benceno
Benzidina
Betel, nuez de, con tabaco
N,N-Bis(2-cloroetil)-2-naftilamina(Clomafcina)
Bis(clorometil)eter y clorometil metil eter (grado técnico)
Botas y zapatos, manufactura y reparación de
1,4-Butanodiol dimetanosulfonato (Mileran)
Carbón mineral, alquitrán de hulla
Carbón mineral, gasificación de
Carbón mineral, minería de
Clorambucil
1-(2-Cloroetil)-3-(4-metilciclohexyl)-1-nitrosourea (metil-CCNU)
Ciclosporina
Cocaína, producción de
Ciclofosfamida
Cromo hexavalente, compuestos de*
Dietilelbestrol
Erionita
Estrógeno, terapia de reemplazo
Estrógeno, no esteroideo*
Estrógeno, esteroideo*
Esquistos, aceites de
Hematita, minería subterránea de, con exposición a radón
Hierro y acero, fundición de
Hollín
Magenta, manufactura de
Melfalán

Tabla 1 (cont.)

8-Metoxipsoralen e irradiación ultravioleta A
 MOPP (terapia combinada con mostaza de nitrógeno, vincristina, procarbazona y prednisona) y otras quimioterapias combinadas que incluyan agentes alquilantes
 Mostaza, gas de
 Muebles y gabinetes de madera, trabajo con
 2-Naftilamina
 Níquel, compuestos de*
 Pintura, exposición ocupacional a
 Radon
 Hule, industria del
 Tabaco, productos de, tabaco sin humo
 Tabaco, humo del
 Talco, que contenga fibras asbestiformes
 Tiotepa, tris(1-aziridinil)sufito de fosfina
 Treosulfan
 Vinilo, cloruro de

*Se refiere a un grupo de sustancias químicas o procesos y no necesariamente a todos los compuestos.

¹ Estos agentes tienen un efecto protector contra cánceres de ovario y de endometrio.

Un carcinógeno, por definición, puede transformar células normales en células cancerosas.

Mecanismos de acción de los Carcinógenos

Según Legator y Au (1994), un carcinógeno típico, puede inducir los siguientes eventos: a) el cambio genético inicial que conduce a una célula iniciada, b) puede generar especies de oxígeno reactivas que pueden causar más daño genético, c) produce alteraciones genéticas posteriores a las iniciales, incluyendo la activación de oncogenes y/o la inactivación de genes supresores de tumores, d) estimula la expansión clonal de la célula iniciada (promoción) y/o acelera la proliferación celular y, e) puede modificar la respuesta inmune.

Se ha podido comprobar que el sitio primario de acción de muchos carcinógenos químicos es el ADN, por lo que la investigación mecanicista trata de reconocer los nucleótidos a los que los carcinógenos se unen, el tipo de unión o de aductos que se forman. Muchos detalles han sido elucidados en el caso de la metilnitrosourea, conociéndose que produce iones carbonium, así como su sitio de unión a la guanina. En los seres humanos no existe evidencia que demuestre que los aductos del ADN que no estén unidos covalentemente, puedan causar cáncer. Sin embargo en bacterias, aún las sustancias

intercalantes son mutagénicas, lo que hace sospechar que la unión covalente no sea necesaria en otras especies (Piantadosi y Sullivan, 1992).

Las evidencias que apoyan que el ADN sea un blanco crítico en el proceso carcinogénico se basan en:

1. La mayoría de los cánceres presentan anomalías cromosómicas.
2. La mayoría de los cánceres presentan expresión génica anormal.
3. Muchos cánceres presentan activación de oncogenes.
4. Las neoplasias se autopropagan, es decir el cáncer se hereda al nivel celular.
5. Algunas alteraciones genéticas predisponen al cáncer.
6. Los carcinógenos reaccionan covalentemente con el ADN.
7. Los defectos en la reparación del ADN predisponen al cáncer.

Las sustancias mutagénicas inducen cambios específicos en el ADN a nivel de: a) secuencia nucleotídica, b) estructura cromosómica o c) número cromosómico. Los cambios nucleotídicos son identificados como mutaciones génicas mientras que las alteraciones cromosómicas son identificadas como daño citogenético clastogénico (b) o aneuploidogénico (c). Se ha podido demostrar daño citogenético en 19 de 27 compuestos carcinogénicos estudiados (70%) (Sorsa y cols 1992) y, aunque limitada, esta información sugiere que la clastogenicidad se halla asociada a la carcinogenicidad. En un estudio epidemiológico realizado en Finlandia, en 806 individuos, se encontró una asociación significativa entre la presencia de una elevada frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos y el desarrollo de cáncer al cabo de 10 años de seguimiento (Sorsa y cols., 1990). Es por todo ello que Ashby y Richardson (1985) otorgan a las pruebas de daño cromosómico un elevado nivel de predicción como indicador o marcador de riesgo.

Cuando existen grupos humanos expuestos a carcinógenos o a tóxicos con riesgo de serlo, el poder detectar los efectos tempranos resulta indispensable para prevenir un desarrollo maligno.

Indicadores o Marcadores Biológicos

Los biomarcadores pueden ser definidos como alteraciones que son medibles en tejidos biológicos, células o fluidos (Hulka, 1990). La magnitud de la alteración que produce la exposición a sustancias tóxicas dependerá de la naturaleza del compuesto, de la dosis de exposición y de la función que desempeñe en el organismo el (los) tejido (s) afectado (s) (NRC, 1989, 1992; Klassen y Eaton, 1991). Los biomarcadores, pueden ser usados como indicadores internos de exposición ambiental, y también pueden reflejar efectos adversos tempranos, tales como daño celular. Esto es especialmente importante, en el caso de estudios de cáncer poblacional, donde tradicionalmente hay un período de latencia de muchos años antes de que una asociación pueda ser medida (Smith y cols., 1993).

Marcadores de Exposición

La exposición externa es la cantidad o concentración de material xenobiótico en el ambiente de un organismo, mientras que la dosis interna se refiere a la cantidad de xenobiótico que es transferida al o absorbida por el organismo. La dosis biológicamente efectiva, en términos generales, es la dosis interna que está cuantitativamente relacionada con un efecto biológico; sin embargo es mucho más preciso considerarla como la cantidad de material xenobiótico que ha interactuado con un receptor celular crítico o con un blanco celular o tisular en donde el efecto biológico se inicia.

Los sitios de recepción son a menudo desconocidos, o no son accesibles al muestreo, por ello es necesario frecuentemente, usar un sitio o compartimento sustituto, para el cual la concentración ha sido correlacionada con la dosis biológicamente efectiva o con el efecto biológicamente identificable en el tejido blanco (Elinder y cols., 1987; NRC, 1989).

Las diferencias metabólicas entre especies y entre individuos de una misma especie, pueden alterar drásticamente también, las dosis internas de los metabolitos reactivos. La dosis interna de un xenobiótico puede variar con la ruta de exposición, la especie química y la forma física. Para hacer estimaciones cuali o cuantitativas de la exposición mediante marcadores biológicos; la concentración, la duración, el patrón de exposición y la naturaleza fisicoquímica de una sustancia tóxica deben ser consideradas en la selección de un marcador apropiado de exposición (Gibaldi y Perrier, 1982). Otros factores ambientales como la temperatura, pueden afectar la exposición cambiando la cantidad de consumo de agua y por lo tanto, de la ingesta de los contaminantes contenidos en la misma. La dieta altera la motilidad intestinal y el tiempo de vaciado estomacal, así como el transporte de sustancias específicas; por ejemplo, dietas bajas en hierro parecen facilitar la absorción intestinal de plomo (Silbergeld y cols., 1983).

Marcadores de Efecto

Los marcadores o indicadores biológicos de efecto son las alteraciones bioquímicas, fisiológicas, genéticas o de otro tipo que, dependiendo de su magnitud, pueden ser reconocidas como un daño potencial o efectivo sobre la salud.

Para la investigación en salud ambiental, los marcadores biológicos de efecto a un agente tóxico son considerados en el contexto de su relación con la salud del individuo (NRC, 1989, 1992), por lo que un efecto se define como:

- Una alteración en un tejido u órgano.
- Un evento temprano en un proceso biológico predictivo del desarrollo de un padecimiento.
- Un padecimiento o una enfermedad clínicamente identificable.
- Una respuesta periférica o paralela al desarrollo de una enfermedad, pero correlacionado con él y por lo tanto útil para predecir la evolución de un padecimiento.

Por ello, un marcador biológico de un efecto puede ser cualquier cambio cuali o cuantitativo predictivo de un daño a la salud y que resulta de la exposición a un agente exógeno. El mismo marcador biológico puede también utilizarse como un indicador de la fisiología normal, por ej. la concentración de glucosa o de colinesterasa en sangre.

Los marcadores de efectos biológicos tempranos incluyen alteraciones en las funciones de los tejidos blanco después de la exposición. Como señales de alarma, estos marcadores pueden ser dosímetros para guiar la intervención para reducir o prevenir la exposición. Estas señales tempranas pueden también observarse en órganos o tejidos diferentes de los sitios que son críticos para la acción de la sustancia tóxica (NRC, 1989).

Un tejido afectado por una sustancia tóxica puede exhibir una función alterada aún si la persona afectada no presenta manifestaciones de ello. Estas funciones alteradas pueden en algunos casos determinarse en pruebas, particularmente con métodos bioquímicos o biológicos. Los marcadores biológicos de estas funciones alteradas son muy útiles si ellas están relacionadas a órganos específicos o funciones, por ej. la beta microglobulina para la función renal y la hormona luteinizante para la ovárica, la respuesta proliferante de linfocitos T para la función inmune celular (NRC, 1989; Ostrosky y cols., 1991; Gonshebb y cols., 1992; Burns y Munson, 1993).

Marcadores de Susceptibilidad

Finalmente, un marcador biológico de susceptibilidad es aquel indicador de una limitación heredada o adquirida de la capacidad de un organismo para responder al reto de la exposición a un agente xenobiótico específico (NRC, 1989).

Algunos marcadores biológicos alertan acerca de la existencia de factores individuales o poblacionales que pueden afectar la respuesta a agentes ambientales. Estos factores son independientes de la ocurrencia de la exposición, a pesar de que en ocasiones, ésta incrementa la susceptibilidad al efecto de posteriores exposiciones (por ejemplo, la sensibilización al formaldehído). Una característica intrínseca o una enfermedad preexistente que aumente la dosis interna o la dosis biológicamente efectiva, o que amplifique el efecto en el tejido blanco, puede ser un marcador biológico de susceptibilidad incrementada (NIEHS, 1985; Omenn, 1986; Harden, 1990). Estos marcadores pueden incluir diferencias congénitas en el metabolismo, variaciones en las concentraciones de inmunoglobulinas producidas y en su afinidad por el antígeno, baja capacidad de reserva orgánica, u otros factores inducidos ambiental o genéticamente que modifiquen la absorción, el metabolismo, la desintoxicación y el efecto de agentes ambientales (Harden, 1990).

A pesar de que los científicos tienden a dividir a los marcadores biológicos en grupos, se hace evidente que hay un proceso continuo entre la salud y la enfermedad, y las evidencias indican que también existe un proceso continuo entre la exposición y el efecto (IARC, 1992). De acuerdo con esto, lo que una vez pareció ser un grupo más o menos discreto de marcadores biológicos, son ahora más difíciles de discriminar. Los marcadores biológicos se dividen mejor operacionalmente, dependiendo de cómo son identificados y cómo serán utilizados, pero las divisiones no deberían ser interpretadas en el sentido de distinciones a nivel de los mecanismos (NRC, 1989).

La selección de marcadores biológicos de exposición o de efecto se basa en un amplio conjunto de datos históricos de estudios *in vitro*, *in vivo*, epidemiológicos, y en mediciones de exposición y de propiedades fisicoquímicas del agente tóxico en cuestión. Los marcadores biológicos de exposición pueden obtenerse midiendo la concentración de una sustancia tóxica o sus metabolitos solos o unidos a ADN, ARN, proteínas o receptores en tejidos o fluidos corporales y en productos de excreción. El uso de marcadores puede acompañarse del empleo de cuestionarios con la intención de estimar la duración y magnitud de la exposición, como ocurre en encuestas acerca de la historia laboral o la historia clínica (NRC, 1989).

Consideraciones biológicas

Un enfoque mecanicista en los eventos básicos responsables de un efecto adverso sobre la salud, debe tomarse en la selección de un marcador biológico. Este debe escoger o generar marcadores biológicos que puedan identificar los estados iniciales de la enfermedad; y que se conviertan en herramientas valiosas para desarrollar estrategias que prevengan la progresión de la enfermedad, y permitan realizar un análisis de riesgo (WHO, 1985; NRC, 1989).

El uso de biomarcadores en estudios epidemiológicos es especialmente importante en estudios ambientales, en donde la medición de la exposición por métodos tradicionales es difícil e imprecisa. El gran período de latencia entre exposición y cáncer es un problema

mayor, mientras que las latencias entre exposición y la aparición de biomarcadores de efecto genotóxico son relativamente cortos (Smith y cols., 1993).

Limitaciones prácticas

Idealmente, el uso de marcadores biológicos para monitorear poblaciones humanas involucra técnicas mínimamente invasivas. El análisis patológico de órganos, la irradiación con dosis elevadas de rayos X, la autorradiografía, o los ensayos de uniones covalentes, pueden ser utilizados para identificar sitios de actividad tóxica en animales de laboratorio, pero no pueden aplicarse directamente a poblaciones humanas. Métodos menos invasivos como el análisis de imágenes a través de resonancia magnética nuclear, pueden hacer posible eventualmente la estimación de las concentraciones de sustancias químicas específicas y de tipos especiales de efectos (por ej. los cambios en la energía celular y la fosforilación (Cohen y cols., 1983) en tejidos de difícil acceso. Pero por ahora, estos métodos resultan inapropiados para el monitoreo de poblaciones expuestas por razones de costo y de operabilidad; por lo que la detección debe ser hecha en compartimentos sustitutos (WHO, 1985; NRC, 1989).

En la elección de marcadores biológicos también hay que tomar en cuenta que las pruebas sean rápidamente aceptables para los individuos. A menos que un ensayo sea rápido, poco complicado y aceptable para el público en general, la participación será pobre (WHO, 1985).

Para otorgarle un valor predictivo a los marcadores biológicos, es necesario tener en cuenta la heterogeneidad de las poblaciones humanas, las cuales están compuestas de personas que difieren en edad, constitución genética, estado nutricional y de salud.

También es indispensable identificar personas con la posibilidad de exhibir los efectos más tempranos y más severos de la exposición a agentes tóxicos ambientales. Los modelos animales pueden ser utilizados para estudiar los mecanismos biológicos de hipersusceptibilidad y examinar en detalle los efectos de los agentes tóxicos ambientales en grupos hipersusceptibles (NRC, 1989, 1992).

La relación entre las diferentes áreas de la Toxicología Ambiental y el papel que juegan los marcadores o indicadores biológicos se han esquematizado en la figura 1.

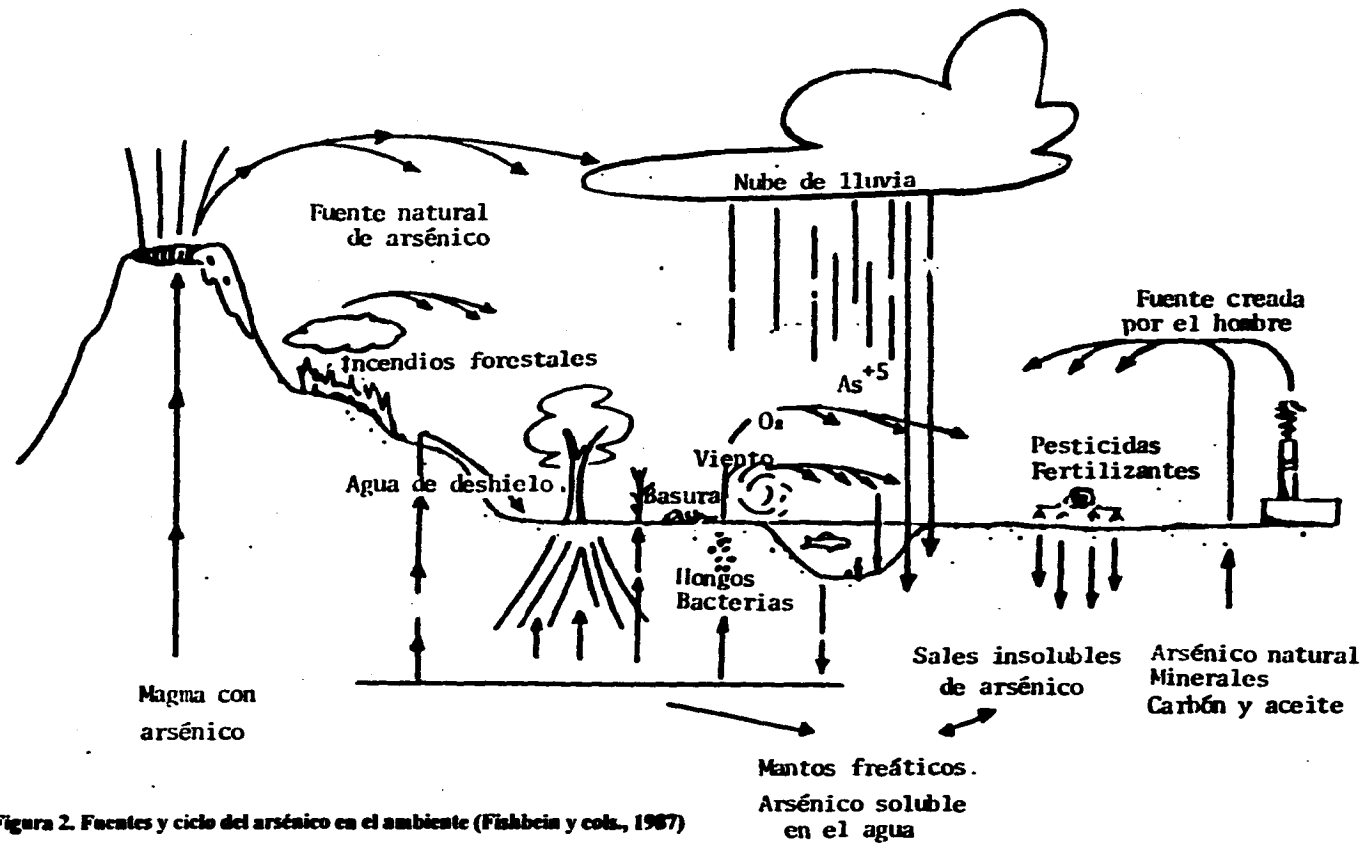


Figura 2. Fuentes y ciclo del arsénico en el ambiente (Fishbein y cols., 1987)

El Arsénico Inorgánico como Carcinógeno Ambiental

Fue el primer metal identificado como un carcinógeno (IARC, 1980) (aunque químicamente es descrito como un metaloide, con propiedades parecidas al fósforo y con toxicidad similar a la de metales pesados como el mercurio y el plomo).

Localización

Se encuentra en algunos lugares de la tierra, en donde existen depósitos de azufre, está presente como sulfuro de arsénico y como arseniuro de algún metal, estado en el cual es capaz de contaminar depósitos subterráneos de agua, de los que se abastecen, en ocasiones, gran parte de algunas ciudades. Se libera al ambiente durante la fundición de metales, combustión de carbón mineral, producción de vidrio, semiconductores y otros procesos industriales (Braman y Foreback, 1973; Lindeberg y cols., 1975).

En la agricultura se usa como plaguicida, fungicida y herbicida. También se ha usado extensamente en el tratamiento de algunas enfermedades como anemia, pelagra, asma y reumatismo (NAS, 1977). El arsénico, además de ser un tóxico general, ha demostrado ser un agente genotóxico capaz de producir daño mutagénico, carcinogénico y teratogénico en algunos sistemas de prueba (Fern, 1977; Vladimir, 1977; Deknuddt y cols., 1986; Carson, 1987; Gilani y Alibhai, 1990). En la figura 2 se ilustra la complejidad de la exposición a arsénico.

Este elemento aparece con frecuencia en agua natural, debido a la erosión de la superficie del suelo y rocas volcánicas. En general, en aguas superficiales el contenido de arsénico es bajo pero hay casos con altas concentraciones, tales como algunos lugares de Polonia (Geyer, 1898), Taiwan (Tseng y cols., 1968), Argentina (Argüello y cols., 1938; Trelles y cols., 1970) y E.U.A. (Goldblatt y cols., 1963). En México, en algunos poblados de la Comarca Lagunera, localizada en la parte central del norte de México, la cantidad de arsénico en el agua llega a niveles de 0.300 mg/L (Del Razo y cols., 1990). En ellos, el envenenamiento crónico por arsénico es endémico (Castellano y cols., 1964; Chávez y cols., 1964; Bracho, 1971; Sánchez de la Fuente y cols., 1976).

Absorción, metabolismo y toxicidad

Existen, como se mencionó antes, diversas formas a través de las cuales el humano puede estar expuesto al arsénico, las de mayor interés para la salud pública son la inhalación y la ingestión de compuestos arsenicales (Tabla 2).

Tabla 2. FORMAS MAS FRECUENTES DE EXPOSICION A ARSENICO

Ocupacional La exposición ocupacional ocurre principalmente por el arsénico inorgánico (óxido de arsénico) en el aire del ambiente de trabajo, como en:

- Fundidoras de metales como el cobre, oro, plomo y antimonio.
- Plantas productoras de arsénico (óxido de arsénico) y de plaguicidas que contienen arsénico.
- En plantas generadoras de energía eléctrica a través de la combustión de carbón mineral.

Ambiental La exposición ambiental ocurre de manera natural por:

- Consumo de agua con elevadas cantidades de arsénico.
- Consumo de alimentos (marinos).

O por la contaminación de:

- Fuentes de agua potable (ríos, lagos).
- El ambiente alrededor de las plantas fundidoras o productoras de arsénico inorgánico.

Introgénica Por el uso de medicamentos (principalmente antiparasitarios) que contienen arsénico: carbarsone, melarsoprol y triparsamida.

(Gonsebatt, 1994).

El arsénico inorgánico, tiene dos estados oxidativos, (III) y (V), arsénico trivalente o pentavalente respectivamente. Datos de experimentos animales y de humanos muestran que el arsénico trivalente corporal es oxidado a la forma pentavalente y excretado como componentes monometilados (ácido. metanoarsónico) y dimetilado (ácido cacodílico). De acuerdo con Smith y cols. (1977), los componentes metilados aparecen en la misma proporción en cerca del 66% del arsénico total, en la orina de trabajadores expuestos a bajos y altos niveles de trióxido de arsénico en el aire, indicando que el porcentaje de biotransformación no cambia con la dosis. Sin embargo Martell (1981), mostró que la relación As (III)/As (V) incrementa con el aumento de la exposición mientras que Ostrosky y cols., (1995) reportan una disminución en las formas dimetiladas en individuos con exposición crónica a niveles por encima de 300 mg/L, lo cual sugiere una saturación de la biotransformación.

El arseniato pentavalente, que es la forma en que se encuentra más frecuentemente el arsénico en la naturaleza, es menos tóxico que el arsenito trivalente. Los componentes pentavalentes son relativamente inactivos fisiológicamente; son solubles en agua y por lo tanto absorbidos rápidamente a través de las membranas mucosas. Esto permite una rápida penetración en todos los tejidos corporales, la mayoría de los cuales son capaces de reducir arseniato a arsenito tóxico.

La reducción de arsénico V^+ a arsénico III^+ *in vivo* como reacción preliminar para su metilación se ha demostrado en rata, ratón y conejo (Vahter y Envall, 1981; Lerman y Clarkson, 1983; Vahter y Marafante, 1987). La actividad metilante esta localizada en el citosol y el proceso requiere la presencia de glutatión reducido, un pH óptimo entre 7.5 y 8.0 y la S-adenosil metionina como donador de metilos *in vivo* (Marafate y Vahter, 1984; Buchet y Lauwerys, 1987).

Los componentes de arsénico trivalente son menos absorbidos a través de las membranas mucosas por su solubilidad lipídica pero son mejor absorbidos a través de la piel (Schoolmeester y White, 1980). La naturaleza química del arsénico en el medio, no es muy conocida, en muchas áreas urbanas y suburbanas el arsénico se encuentra como una mezcla de arsénico inorgánico tri y pentavalente, predominando esta última en la gran mayoría de los casos. Por otro lado, se sabe que la forma química del arsénico ya metabolizado por el hombre es un derivado dimetilado, que comúnmente se denomina ácido cacodílico (Bertolero y cols., 1987; Del Razo y cols., 1990).

Bajo circunstancias normales aproximadamente 1mg de arsénico es ingerido diariamente (Petery y cols., 1970). Después de la absorción, el arsénico se combina con la porción globina de la hemoglobina en los eritrocitos. Después de un período de 24 horas, el arsénico es distribuido a órganos tales como el hígado, bazo, pulmón y riñón. Una pequeña cantidad se acumula en músculo y tejido nervioso porque la penetración a la barrera hemato-encefálica es mínima. El arsénico que permanece en la sangre se une a las proteínas, dos o cuatro meses después de la ingestión se incorpora al cabello, uñas y piel como uniones de arsénico a grupos sulfidrilo de la queratina (Schoolmeester y White, 1980)

La principal ruta de excreción es a través del riñón, pero las heces, piel y cabello también pueden contener apreciables cantidades de arsénico (Tadlock y Aposhian, 1980). En la figura 3 se describen las vías de absorción, metabolismo, excreción y acumulación de arsénico.

Las manifestaciones clínicas por envenenamiento agudo por arsénico, generalmente ocurren pocas horas después de la ingestión o exposición. La lesión principal de una intoxicación aguda con As inorgánico es el daño gastrointestinal con vómito y diarrea. Otros síntomas incluyen calambres musculares, edema facial, dermatitis, encefalopatía y anomalías cardíacas. Los individuos que sobreviven a intoxicaciones agudas,

frecuentemente desarrollan problemas a nivel del sistema nervioso periférico (WHO, 1981; Bryson, 1989).

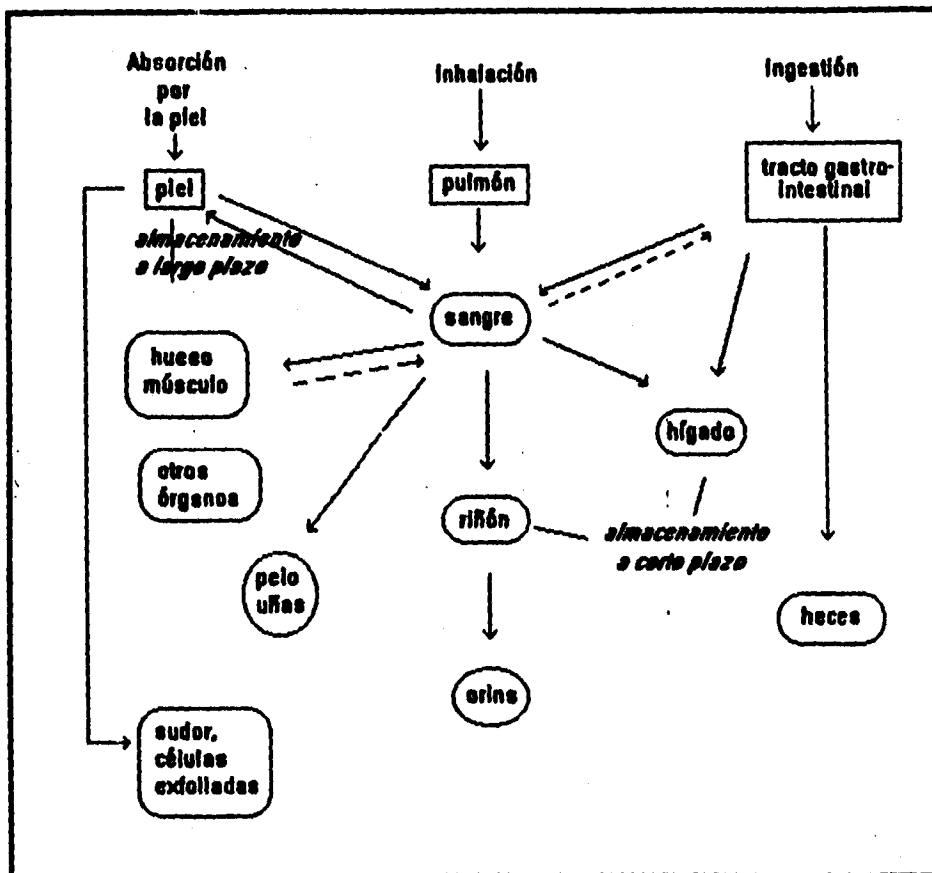


Figura 3. Cinética del arsénico inorgánico, vías de absorción, metabolismo, excreción y acumulación (Vehter, 1988; tomada de Gensebat, 1994)

Efectos subagudos a compuestos irritantes como el óxido de As(III) en el aire, incluyen daño severo en las membranas mucosas del sistema respiratorio y de la piel expuesta. Son frecuentes las perforaciones del septo nasal, irritación intensa de la mucosa nasal, laringe, bronquios y canal auditivo. Estos síntomas pueden además estar acompañados de conjuntivitis y dermatitis. El sistema hematopoyético sufre también efectos caracterizados por anemia y leucopenia (granulopenia) (WHO, 1981; Bencko, 1987).

Exposiciones crónicas a niveles elevados de As inorgánico en trabajadores de fundidoras, producen lesiones en el tracto respiratorio superior y hasta perforaciones en el septo nasal. Alteraciones de piel como hiperqueratosis palmoplantar, se desarrollan en individuos expuestos a niveles elevados de As en el agua de bebida, o en personas que están bajo medicación prolongada con soluciones como la de Fowler. Otros síntomas dermatológicos incluyen hipo e hiperpigmentaciones, aunque las lesiones hiperqueratosas son raras entre los trabajadores de las fundidoras (WHO, 1981; Bencko, 1987; ATSDR, 1989).

Exposición por ingestión

La ingestión es una vía directa y es la principal fuente de exposición para las poblaciones al consumir alimentos o agua contaminada y no siempre son pequeñas o están controladas. Por ejemplo, en los depósitos subterráneos de agua el arsénico llega a alcanzar concentraciones de hasta 1.100 mg/L., siendo que la concentración máxima recomendada por la organización mundial de la salud, en el agua potable de 0.010 mg/L. (WHO, 1992).

Estudios epidemiológicos muestran que en poblaciones humanas, la exposición crónica a arsénico esta asociada a una elevada incidencia de cáncer broncogénico cuando es por inhalación (IARC, 1980, 1987), pero también puede causar cáncer de piel, pulmón, vejiga, riñón, e hígado cuando es por ingestión (Argüello y cols., 1938; Roth, 1958; Galy y cols., 1963; Bergolio, 1964; Tseng y cols., 1968; Biagini, 1972; IARC, 1980, 1987; Chen y Wang, 1990; Tsuda y cols., 1990; Bates y cols., 1992; Cuzick y cols., 1992).

Existe interés en conocer los mecanismos por los cuales algunos metales son capaces de producir daños mutagénico y carcinogénico, ya que se piensa que al comprenderlos se podrá inhibir o prevenir los efectos biológicos que se observan por la exposición a ellos. Oxianiones, tales como el cromato y arseniato, pueden entrar a la célula usando los sistemas de transporte de fosfato y sulfato que normalmente se encuentra en las membranas (Jennette, 1981).

Las levaduras utilizan el sistema de transporte de fosfatos para ingresar el arseniato (Jung y Rothstein, 1965), el cual inhibe competitivamente a los fosfatos en células 3T3 de fibroblastos de ratón (Hilborn, 1976). La fosfatasa ácida de hígado humano y la de germen de trigo fue inhibida competitivamente por arseniato, vanadato, molibdato y tungstato (Van Etten y cols., 1974). El arseniato inhibió competitivamente la fosfatasa alcalina de *E. coli*

(Lazdunski y Lazdunski, 1966). El arseniato también inhibe (Na^+ , K^+) ATPasa por unirse al sitio débil del ATP en el riñón de perro (Cantley y cols., 1978).

Se ha observado por ejemplo, que el arsénico afecta la oxidación en las mitocondrias celulares, puesto que estimula a la ATPasa de la mitocondria y la oxidación en la ausencia de fosfato inorgánico (Schiller y cols., 1977).

Los estudios realizados *in vitro* han demostrado que el arsénico tiene actividad clastogénica (Levan, 1945; Nygren, 1949; King y Lundford, 1950; Oppenheim y Fishbein, 1965; El Sadek, 1972; Paton y Allison, 1972; Léonard y Lauwerys, 1980; Wan y cols., 1982; Vega y cols., 1995) y comutagénica, es decir es capaz de dañar al ADN y de aumentar la capacidad mutagénica de una serie de compuestos con actividad genotóxica comprobada, como la luz ultravioleta y el alquilante metil metano sulfonato (Okui y Fujiwara, 1986; Li y Rossman, 1989).

En la división celular, los efectos del metal incluyen alteraciones en el huso mitótico, detención de las células en metafase, formación de células poliploides, formaciones diplocromáticas, cromosomas rezagados y, finalmente, un decremento en el índice mitótico (Roldan, 1990; Vega y cols., 1995). Algunas de estas respuestas pueden ser atribuidas a la afinidad de los metales por los ligandos de sulfuro (Rossman, 1989) y, consecuentemente, por las proteínas del huso mitótico (Cherian, 1987).

Sin embargo, hasta el momento no se ha podido demostrar experimentalmente en algunos animales el efecto carcinogénico del arsénico (Hueper y Payne, 1962; Baroni y cols., 1963; Boutwell, 1963; Milner, 1969; Ferm, 1977; y Yamanaka y cols., 1989). El arsénico, también ha sido considerado como un anticarcinógeno (Frost, 1983).

Como teratógeno, componentes inorgánicos produjeron malformaciones en fetos cuando se trataron ratones y hamsters preñados (Ferm y cols., 1971; Hood y Bishop, 1972; Hood y cols., 1982) así como en pollo (Ancel, 1946) y embriones de erizo de mar (Pagano y cols., 1982).

Hay evidencias que demuestran diferencias en el metabolismo del arsénico entre el ser humano y algunas especies animales. Se ha encontrado que la absorción, distribución, metabolismo y excreción del arsénico dependen de una gran cantidad de factores, tanto fisiológicos como ambientales; lo que podría explicar en parte, las diferencias en la toxicidad de este compuesto en las distintas especies estudiadas (Lanz y cols., 1950; Crecelius, 1977; Pomroy y cols., 1980; Vahter y Norin 1980; Buchet y cols., 1981).

Se han observado aberraciones cromosómicas en trabajadores expuestos a componentes arsenicales (Petres y cols., 1977; Nordenson y Beckman, 1978). En un grupo de individuos expuestos crónicamente a altas dosis de arsénico en el agua de bebida, se observó una frecuencia elevada de aberraciones cromosómicas de tipo cromatídico (Gonsebatt, 1994). Los linfocitos de estos individuos muestran una respuesta proliferativa

menor que la observada en los testigos no expuestos, relacionándose esta observación a un probable efecto inmunosupresor de la exposición crónica (Ostrosky y cols., 1991; Gonsebatt, 1994).

Como mencionamos antes, el arsénico ingresa al organismo por inhalación y por ingestión. Los tejidos epiteliales que recubren la cavidad oral, el sistema respiratorio y los túbulos renales y la vejiga se encuentran en contacto directo con el arsénico; además, el tipo de cáncer que se encuentra asociado con la exposición a arsénico indica que estos tejidos son blanco de este metaloide.

El Tejido Epitelial

El tejido epitelial está constituido por células generalmente poliédricas, yuxtapuestas, entre las cuales hay escasa sustancia intercelular. Las células epiteliales derivan de las tres hojas germinativas (ecto, endo y mesodermo). La mayor parte de las células epiteliales que recubren la piel y algunas cavidades naturales (boca, ano y fosas nasales) son de origen ectodérmico. El epitelio que reviste casi todo el tubo digestivo y el árbol respiratorio deriva del endodermo. Las glándulas del aparato digestivo, como el páncreas y el hígado, también están formadas por epitelio de origen endodérmico. La mayoría de los epitelios restantes tienen origen mesodérmico, como el riñón (Junqueira y Carneiro, 1979).

Es común clasificar los epitelios de acuerdo con su estructura y función en dos grandes grupos: los de revestimiento y los glandulares. Este criterio encierra cierto grado de arbitrariedad, ya que existen epitelios de revestimiento donde todas las células secretan moco (por ej., el epitelio de revestimiento del estómago) o también donde sólo algunas células son glandulares (por ej., las células calciformes del epitelio de la tráquea y del intestino).

Epitelios de revestimiento.

Son aquellos cuyas células se disponen en diferentes capas, que recubren la superficie externa o las cavidades del organismo humano. Se dividen con criterios esencialmente morfológicos, teniendo en cuenta el número de capas en que se disponen y la forma de las células de la capa más superficial.

Epitelios glandulares

Están constituidos por células que presentan como actividad característica la producción de secreciones líquidas, de composición diferente de plasma sanguíneo o de líquido de los tejidos. Generalmente los procesos de secreción se acompañan de la síntesis intracelular de macromoléculas.

En la tabla 3 se presenta una descripción de los epitelios de revestimiento que comprende a las células del tracto urogenital.

Tabla 3. EPITELIOS DE REVESTIMIENTO (Leeson y cols., 1989)

Según el número de capas	Tipo celular	Distribución	Función
SIMPLES (Una capa)	Plano	Revestimiento de los vasos sanguíneos (endotelio) Revestimiento de las cavidades: peritoneal, pericárdica y pleural (mesotelio)	Transporte activo por pinocitosis Facilitar el movimiento de las vísceras (mesotelio).
	Cúbico	Superficie del ovario Conductos glandulares	Protección, Secreción y absorción
	Cilíndrico	Revestimiento del intestino	Protección, lubricación, digestión y absorción
SEUDOESTRATIFICADO (Una capa de células con núcleos a diferentes niveles)	Cilíndrico	Tráquea y bronquios, Uretra masculina (no ciliado) Epidídimo (estereocilios)	Protección, humectación y transporte de partículas extrañas hacia el exterior
ESTRATIFICADO (Más de una capa)	Plano	Revestimiento de la piel, boca, esófago Vagina, esófago, córnea	Protección, dificultar la pérdida de agua
	De Transición	Revestimiento interno de la vejiga y parte de las vías urinarias	Protección, distensibilidad
	Cúbico	Glándulas sudoríparas	Protección y secreción
	Cilíndrico	Conductos excretores mayores	Protección, secreción, absorción

Renovación de los epitelios

Los epitelios son tejidos cuyas células tienen vida limitada. En consecuencia, hay una renovación constante de estas células gracias a una actividad mitótica continua. La velocidad de esta renovación es variable, pudiendo ser muy rápida en ciertos casos y lenta en otros. Como ejemplos extremos pueden citarse el epitelio de revestimiento intestinal, que se renueva cada dos o tres días, y el de las glándulas salivales y del páncreas que tardan más de dos meses para renovarse. En los epitelios estratificados y pseudoestratificados en general, las mitosis ocurren en las células situadas junto a la membrana basal.

Metaplasia

En determinadas condiciones patológicas, ciertas células epiteliales pueden sufrir una serie de alteraciones y dar origen a un nuevo tipo epitelial. Este proceso se llama metaplasia; es una alteración reversible y pueden citarse los siguientes ejemplos:

a) el epitelio pseudoestratificado de la tráquea y de los bronquios en fumadores crónicos puede ser sustituido por epitelio estratificado pavimentoso bajo la acción irritante del humo.

b) en casos de carencia de vitamina A, el epitelio de los bronquios, el de transición de la vejiga y varios otros son sustituidos por epitelio estratificado pavimentoso cornificado.

Este proceso es reversible a diferencia de los procesos de diferenciación. La metaplasia atípica resultante, la cual representa un paso hacia *displasia*, es ocasionalmente encontrada en inflamación crónica.

Anaplasia

Este término es usado para denotar falta de diferenciación celular y rara vez es encontrado, excepto en neoplasia maligna.

Neoplasia

Este término literalmente significa "crecimiento nuevo". La neoplasia está ampliamente caracterizada por proliferación celular que excede y es descoordinada del crecimiento normal. En general, la anomalía proliferativa de las células neoplásicas se comporta como un cambio fenotípico estable e irreversible.

Neoplasia benigna. Por definición, no invade o metastatiza, algunas de ellas son no encapsuladas o discretamente demarcadas (p.e., ciertos tumores vasculares de la dermis).

Neoplasia maligna es sinónimo del término *cáncer*. Los cánceres crecen por invasión de estructuras, incluyendo vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. Los cánceres también pueden dar metástasis a distintos sitios por "sembrar" cavidades corporales.

Final de la degeneración celular

La morfología celular, se deteriora progresivamente con el incremento de pH y almacenamiento prolongado (Pearson y cols., 1981). El punto final de la degeneración, es

decir, la muerte celular, conduce a tres acontecimientos: cariopcnosis, cariorrexis y cariólisis (Tabla 4).

La cariólisis es un estado inespecífico (Wendt, 1959) en que las cromatinas que contienen ADN están disminuídas y condensadas hacia el borde nuclear. El contorno celular se torna esférico, las cromatinas condensadas en la periferia persisten como unas masas de cromatina aglomerada después de haber desaparecido el borde nuclear (cariorrexis). Otra forma de muerte celular que se observa con frecuencia es la cariopcnosis, en que hay retracción y condensación de la cromatina en el núcleo, el cual se convierte en una masa sólida y amorfa. El citoplasma exhibe disminución de la basofilia por pérdida de ribonucleoproteína, intensa eosinofilia y fragmentación.

Tabla 4. ALTERACIONES CELULARES DEGENERATIVAS (Takahashi, 1985)

<i>ETAPA INICIAL</i>	<i>ETAPA FINAL</i>
Agrandamiento nuclear	Cariorrexis
Engrosamiento del borde nuclear	Cariopcnosis
Clarificación nuclear	Cariólisis
Tumefacción nucleolar	Coagulación (acidofilia) o
Mitosis anormales (multinucleación)	licuefacción del citoplasma.
Vacuolización y agrandamiento del citoplasma.	

Pcnosis y cromatina condensada se correlacionan normalmente en diferenciación y madurez del epitelio celular. Sin embargo, se presentan elevadas como respuesta a lesión celular. Pcnosis, cromatina condensada, y cariólisis acompañan queratinización, una respuesta adaptativa a lesión celular en epitelio que normalmente no es queratinizante (Pindborg y cols., 1980; Shklar, 1965).

Pcnosis, cromatina condensada, cariorrexis y cariólisis también son evidentes en células que sufren necrosis una forma de muerte celular que ocurre siguiendo la lesión por agentes que causan perturbación gruesa del ambiente celular (Wyllie, 1981). Pcnosis, cromatina condensada y cariorrexis (pero no cariólisis) acompañan estadios tempranos de otro tipo de muerte celular, apoptosis. Se pensó que la apoptosis era el mayor tipo de muerte celular en tejidos vivos, que aparece bajo control fisiológico y efectos ordinarios de muerte celular tales como los que ocurren en embriogénesis y cambio de células normales (Wyllie, 1981; Cotter y cols., 1992). Sin embargo, la apoptosis es estimulada tanto por radiaciones ionizantes como por químicos que se unen al ADN o por desregulación génica. También puede actuar como un mecanismo de reconocimiento, eliminando células con daño genético; así, apoptosis en exceso de los niveles normales, puede ser un indicador de insulto genotóxico. En el caso de necrosis, la fragmentación de ADN ocurre después de la muerte celular; en cambio en la apoptosis, la fragmentación precede la muerte (Kyprianou y cols., 1990).

Características Citológicas de Malignidad

Existen cambios celulares en la transformación maligna que son características comunes a todas las células malignas y pueden describirse a tres niveles.

1. Nivel Celular

-*Polimorfismo* (Irregularidad en el tamaño y la forma de las células.

2. Nivel del Citoplasma.

-*Diferenciación* (ausente). En el citoplasma se observa, aunque de manera imperfecta, la conservación de algunas de las funciones que caracterizan al tejido de origen.

-*Polimorfismo*. La variabilidad en el tamaño y forma de las células malignas, se debe en gran parte, a que su citoplasma tiene disminuida su capacidad para resistir presiones físicas que no afectan a las células normales.

3. Nivel del Núcleo.

-*Anisonucleosis o anisocariosis* (variación en el tamaño nuclear)

-*Discariosis*. Relación núcleo-citoplasma alterada significativamente en favor del núcleo.

-*Hipercromasia*. Presencia de núcleos que se tñen de color muy intenso al utilizar colorantes nucleares tales como la hematoxilina. Distribución anormal de la cromatina (cromatina en grumos gruesos, irregulares, oscuros, mayores que los cromocentros normales y con frecuencia ubicados en la periferia nuclear).

-*Anormalidades nucleolares* (crecimiento del nucléolo , nucléolos múltiples de formas irregulares).

-*Mitosis anormales* (figuras mitóticas con distribución anómala de cromosomas o mitosis con más de dos polos).

El Sistema Renal

Una de las funciones del sistema renal es la eliminación de productos metabólicos de desecho, y de sustancias tóxicas. Para hacerlo, el riñón procesa continuamente la sangre. El exceso de agua, sales y las sustancias de desecho son eliminados en la orina, la cual se almacena en la vejiga.

El nefrón que es la unidad funcional del riñón, consiste en un glomérulo, el túbulo contorneado proximal, el asa de Henle, el túbulo contorneado distal, y el túbulo o conducto colector. Las células que forman el túbulo contorneado proximal pertenecen a un epitelio de tipo columnar bajo o cuboide cuyo citoplasma es eosinófilo y granular. El borde citoplasmático que mira hacia la luz posee el llamado ribete en cepillo, constituido por un sinnúmero de microvellosidades que aumentan la superficie celular. El túbulo contorneado distal en cambio, está tapizado por un solo estrato de epitelio cuboide de citoplasma pálido pero sin ribete en cepillo (Figura 4).

Histología del Tracto Urinario y sus componentes Celulares

El tracto urinario consiste de pelvis renal, uréteres, vejiga urinaria y uretra. Desde la pelvis renal hasta la vejiga, la membrana mucosa se halla tapizada por un epitelio transicional, y aunque su espesor difiere de un sitio a otro; la pelvis y los uréteres tienen tres a cuatro estratos, en tanto que la vejiga posee seis a ocho. En la vecindad del orificio uretral la vejiga urinaria presenta unas invaginaciones pequeñas de la membrana mucosa (criptas) en las que puede haber aglomeraciones intraepiteliales de células mucosecretantes. La uretra masculina, en la cual desemboca el aparato reproductor, consiste de los siguientes tipos de epitelio: epitelio transicional en la uretra prostática, epitelio columnar estratificado en la uretra membranosa y en la uretra cavernosa; y epitelio pavimentoso estratificado en la fosa navicular de la uretra. La uretra femenina presenta diferencias individuales en su epitelio de revestimiento; la mayoría de las veces esta tapizado por un epitelio pavimentoso estratificado y, en ocasiones, por epitelio columnar pseudoestratificado.

1. *Células epiteliales tubulares*

Las células tubulares, que suelen aparecer comunmente aisladas o agrupadas en pequeñas congregaciones laxas, son pequeñas, redondas o cuboides, de núcleos ovales excéntricos, y se las llama "células redondas pequeñas" el citoplasma es poco tangible y muchas veces exhibe vacuolación vesiculosa fina. Raramente se encuentran en orina evacuada u orina cateterizada, excepto en casos de rechazo de trasplante renal o enfermedad parenquimal renal.

2. *Células epiteliales transicionales*

Se presentan en todos los especímenes urinarios y varían considerablemente en tamaño, con un diámetro celular de 9 a 40µm. En orina evacuada se aprecian solas o en forma de grupo cohesivo flojo o extensión.

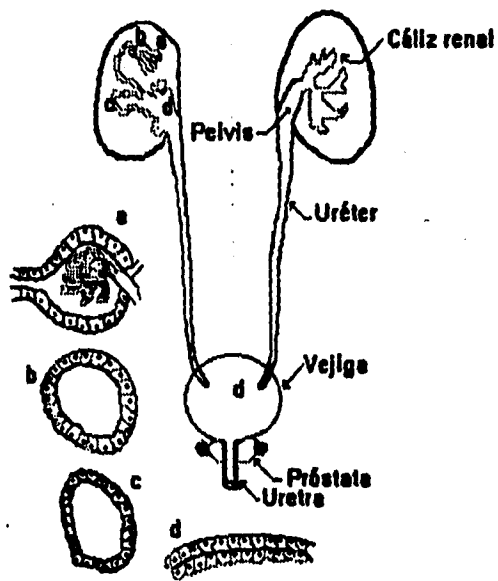


Figura 4. Histología y citología de las vías urinarias inferiores
 DIAGRAMA ANATOMICO · (Takahashi, 1985)

A) *Células transicionales superficiales*. Son de tamaño y forma variables. Los núcleos difieren de la forma triangular o poliédrica a la oval. La variación de su forma depende en gran medida de la influencia de la hipertonia de la orina. Las células bien preservadas son de núcleos ovales o redondos, con partículas de cromatina finamente granulares y de distribución pareja, en tanto que las deshidratadas presentan condensación de cromatina moteadas. El citoplasma es bastante abundante y poliédrico o piriforme, con prolongaciones a modo de cola, en ocasiones se ve vacuolación citoplasmática.

B) *Células transicionales multinucleadas*. En las células epiteliales superficiales no es poco frecuente que ocurra multinucleación, con dos o tres núcleos ovales uniformes (células en paraguas) (Graham y cols., 1954; Crabbe, 1962; Johnson, 1964; Koss, 1968). Tampoco es raro ver células gigantes sinciciales multinucleadas con un sinnúmero de núcleos en el amplio citoplasma sincicial. Todavía no existe unanimidad sobre la índole de éstas células. Mientras que Harman y Hogan (1949) señalan el origen epitelial tubular en los túbulos contorneados proximales, se sugiere que la causa es una modificación reactiva del epitelio transicional como respuesta a la presencia de grandes acumulaciones de mucina (Dorfman y Monis, 1964); es frecuente ver la asociación de multinucleación con inclusiones citoplasmáticas constituidas por mucopolisacárido ácido. Aunque la multinucleación todavía es cuestión de conjetura, algunos investigadores la atribuyen a irritación o inflamación (Melamed y Wolinska, 1961), a la administración de algún laxante (Macfarlane, 1966) y a cateterización del tracto urinario superior. No se tienen evidencias de si esto se relaciona o no con el crecimiento neoplásico.

C) *Células transicionales profundas*. Los núcleos son ovales o elípticos y de cromatina granular fina. Los bordes nucleares están acentuados en algunas ocasiones por condensación de la cromatina. Poseen un citoplasma escaso, fusiforme o columnar con cola, el citoplasma parece ser translúcido o vacuolado.

3. *Células epiteliales pavimentosas o escamosas*

Proviene principalmente de la uretra y de la vagina, las células epiteliales provenientes de la uretra son componentes celulares normales. Es frecuente que la orina de la mujer contenga considerable cantidad de células pavimentosas por contaminación vaginal o vulvar (Bradley y cols., 1979).

La orina es un fluido biológico cuyo contenido se utiliza clínicamente. El análisis de la orina puede ser cuali o cuantitativo. A menudo los análisis cualitativos incluyen determinaciones de color, turbiedad, pH, densidad, contenido de glucosa, proteínas, bilirrubinas, cetonas, urobilinógeno y examen microscópico de los sedimentos. El análisis cuantitativo se reserva generalmente para estudios de fisiología renal como son los estudios de depuración, o de determinados metabolitos (Stevens y Mylecraine, 1994).

Entre los elementos celulares que pueden estar presentes en la orina se encuentran: eritrocitos, leucocitos, bacterias, hongos, cilindros, espermatozoides y células epiteliales provenientes de cualquier punto del tracto urinario, desde los túbulos contorneados proximales hasta la uretra, o como contaminantes procedentes de vagina o vulva.

Normalmente pueden encontrarse algunas células epiteliales en la orina como consecuencia del desprendimiento normal de células viejas. Un incremento marcado indica inflamación de la porción del tracto urinario de donde proceden (Graff, 1987).

El sedimento urinario de mujeres frecuentemente contiene apreciable cantidad de células epiteliales exfoliadas de la vejiga; esas células son predominantemente de tipo escamoso. Se ha observado que en el sedimento urinario de hombres, la presencia de células epiteliales exfoliadas es mucho más escasa, aumentando en las siguientes situaciones: 1) infecciones del tracto urinario, 2) pacientes sometidos a estrogenoterapia por carcinoma de próstata, 3) tumores epiteliales (Schulte y cols., 1963).

Bacterias. Normalmente en la orina a nivel renal y vesical no existen bacterias, pero puede contaminarse por bacterias presentes en la uretra, en la vagina o procedentes de fuentes externas. Cuando una muestra de orina fresca correctamente recolectada, contiene gran número de bacterias, y en especial cuando esto se acompaña de muchos leucocitos, por lo general es indicativo de infección del tracto urinario.

Eritrocitos y leucocitos. En general, en condiciones normales no aparecen hematíes, los hematíes presentes en la orina pueden provenir de cualquier punto del tracto urinario, desde el glomérulo hasta el meato urinario. La hematuria microscópica puede aparecer como un minúsculo botón de sangre en el tubo centrifugado. La hematuria es un dato importante de patología renal intrínseca, de trastornos hemorrágicos sistémicos y de enfermedades extrarrenales. La hematuria macroscópica es frecuente en las neoplasias malignas, glomerulonefritis hemorrágica, cistitis hemorrágica, traumatismo, etc., los leucocitos tienen un diámetro de 10 a 12 μm (Race y White, 1979), en consecuencia, son de mayor tamaño que los eritrocitos, pero más pequeños que las células del epitelio renal. La mayoría de los leucocitos de la orina son neutrófilos, la importancia de los leucocitos en la orina no consiste siempre en la cantidad, sino en la forma en que aparecen. Por ejemplo, los cilindros leucocitarios o los de glóbulos blancos hialinos significan enfermedad inflamatoria renal intrínseca.

Cristales. Por lo general, no se encuentran cristales en la orina recién emitida, pero aparecen dejándola reposar durante un tiempo, cuando la orina está sobresaturada con un compuesto cristalino particular, o cuando las propiedades de éste se encuentran alteradas, el resultado es la formación de cristales. En algunos casos esta precipitación se produce en el riñón o en el tracto urinario, y puede dar lugar a la formación de cálculos urinarios (Graff, 1987).

Cilindros. Los cilindros urinarios se forman en la luz de los túbulos del riñón, reciben ese nombre porque son moldeados en los túbulos. Pueden formarse por precipitación o gelificación de la mucoproteína de Tamm-Horsfall (McQueen, 1966; Rutecki y cols., 1971) por agrupamiento de células o de otros materiales dentro de una matriz protéica, por adherencia de células o de material a la matriz, o por conglutinación de material en el interior de la luz tubular. Los cilindros tienen siempre origen renal y constituyen importantes indicadores de enfermedad renal intrínseca. Pueden estar presentes

en los casos de daño glomerular, de daño tubular, de inflamación renal y de infección renal (Graff, 1987).

Parásitos en la orina. Los protozoarios aparecen en el sedimento urinario. Los huevos de *Schistosoma haematobium* pueden encontrarse en una orina que a menudo es hemorrágica. La esquistosomiasis y bilharziasis reviste particular importancia por su relación con la carcinogénesis (Silverman y cols., 1992).

El estudio de las células exfoliadas se remonta a mediados del siglo diecinueve. Walshe (1843), observó pequeños fragmentos tisulares expectorados de crecimiento maligno del tracto respiratorio. En 1847 Pouchet, en su libro acerca de la ovulación y otros fenómenos relacionados, reportó sus observaciones de las células del frotis vaginal humano. Sus investigaciones estuvieron limitadas a la citología normal, así él empezó a averiguar la existencia de cambios morfológicos los cuales, pudieron estar correlacionados con el proceso ovulatorio normal.

Una de las primeras referencias en estudios de células descamadas para el propósito de diagnóstico de cáncer fue Beale (1860), quién reportó el hallazgo de células malignas en el esputo de un caso de cáncer en la faringe, células malignas en frotis de esputo fresco de casos de carcinoma de pulmón fueron reportados por Hampeln (1876, 1887; Ménétrier, 1886; Betschardt, 1895).

También fueron utilizados frotis citológicos, de otros fluidos corporales, para el diagnóstico de malignidad. Así Sanders (1864), reportó encontrar fragmentos de tejido maligno en la orina de pacientes con cáncer de vejiga. Observaciones posteriores en células de la orina fueron hechas por Dickinson (1869). Ferguson (1892), recomendó el examen microscópico de sedimento urinario como la mejor ruta, exclusiva de cistoscopia, de diagnosticar tumores de la vejiga.

Lücke y Klebs (1867) encontraron células malignas en frotis de líquido de ascitis en casos de tumores malignos del ovario. Quincke (1875, 1882) utilizó este principio en el examen de trasudados y exudados para células cancerosas. En esta aplicación, sin embargo, el uso de frotis fue rápidamente reemplazado por el fraccionamiento de células sedimentadas (Bahrenberg, 1895). Numerosas contribuciones han sido hechas por otros investigadores, quienes estudiaron la citología de varios fluidos corporales, sobre todo para establecer criterios para el diagnóstico de cáncer de diferentes órganos.

El uso de secreciones uterina y vaginal, posteriormente se extendió a otros fluidos corporales tales como orina, secreción prostática, semen, esputo, aspirados: bronquial, gástrico, duodenal, rectal y colónico y, lavados: pleural, peritoneal y exudado pericárdico; secreción de mama, y aspirado de fluidos de otras cavidades corporales y crecimientos quísticos.

La citología urinaria en el diagnóstico de tumores del tracto urinario fue retomada por Papanicolaou y Marshall en 1945 y ha tenido una amplia utilización. Los urólogos en casi cada instancia buscan la asistencia de la citología diagnóstica, ya que esta permite una

evaluación temprana donde hay sugestión de existencia de neoplasia maligna del tracto urinario, al igual que con grupos de alto riesgo como el caso de la industria petroquímica (Crabbe, 1956; Matanoski y Elliot, 1981).

El análisis citológico de orina no sólo es importante para diagnosticar tumores del urotelio, sino también para realizar exámenes preliminares para lesiones precancerosas o carcinoma *in situ* en poblaciones de alto riesgo. El carcinoma de urotelio ocurre con mucha frecuencia en trabajadores de las industrias textil, gráfica, plástica y caucho, que se han expuesto a sustancias colorantes, pues se identificó como cancerígenos a la 2-naftilamina, 4-aminobifenili, bencidina y 4-nitrobifenilo (Tabla 5)

Tabla 5. CITOLOGÍA URINARIA EN TRABAJADORES CON COLORANTES
(Sasaki, K) tomado de Takahashi, 1985.

CITOLOGÍA	AÑO				TOTAL DE MUESTRAS	CASOS	%
	1973	1974	1975	1976			
NORMAL	1	24	21	30	76	11	20
ATIPIA LEVE	9	19	24	24	76	38	69
DISPLASIA	1	4	4	2	11	5	9
SOSPECHOSA							
CARCINOMA	1	1	0	0	2	1	2
<i>in situ</i>							
CARCINOMA	0	0	0	0	0	0	0
INVASOR							

La epidemiología del cáncer de vejiga, muestra una clara relación de infecciones y otras enfermedades del tracto urinario, las cuales pueden causar irritación crónica y por lo tanto favorecer la acción de carcinógenos específicos. Se ha establecido una clara relación en Egipto y otras regiones de África entre infecciones con *Schistosoma haematobium* y riesgo de cáncer de vejiga (Mustacchi y Shimkin, 1958; Gelfand y cols., 1967), pero el camino de otros agentes infecciosos en cistitis inespecífica o carcinogénesis de vejiga es más difícil de estudiar epidemiológicamente, particularmente porque los síntomas tempranos de cáncer de vejiga son similares a aquellos de cistitis (La Vecchia y cols., 1991).

La proporción de tumores que son carcinoma de células escamosas, o mezclados con elementos de células escamosas o transicionales, parecen estar especialmente elevados en pacientes con infecciones del tracto urinario (Broecker y cols., 1981). Una tendencia marcada hacia metaplasia escamosa en infección crónica de vejiga sugiere un estado precursor de carcinoma de células escamosas (Connery, 1953; Polsky y cols., 1976).

La citología exfoliativa, por carecer de estructura histológica, sólo depende de la anaplasia o desdiferenciación de las células tumorales, ya que este tipo de examen no sólo es técnicamente sencillo y repetible, sino también exacto para detectar cánceres incipientes en diversos órganos. A pesar de los progresos recientes en investigaciones biológicas sobre marcadores de neoplasias malignas, el diagnóstico práctico de cáncer todavía se limita a los exámenes histológicos, así como a los radiológicos o endoscópicos basados en la

morfología. Aunque la citología exfoliativa también se basa en la morfología, no se la debe sobreestimar considerándola tan valiosa como el diagnóstico histopatológico.

El citodiagnóstico no es un simple informe de malignidad sino una interpretación resumida de alteraciones patológicas en diversos tipos de células. Es necesario interpretar las alteraciones degenerativas, inflamatorias, progresivas y neoplásicas las cuales se presentan en la figura 5 (Takahashi, 1985). Como en citología exfoliativa, se trabaja con células más o menos degeneradas, lo que denominamos atipia celular podría comprender un polimorfismo degenerativo, además del polimorfismo neoplásico.

Los marcadores de genotoxicidad son indicadores importantes en la evaluación del efecto de un carcinógeno. En el caso de la exposición a arsénico resulta de gran utilidad determinar su sensibilidad para detectar exposición. En los tejidos exfoliados se ha propuesto el ensayo de micronúcleos como indicador de genotoxicidad.

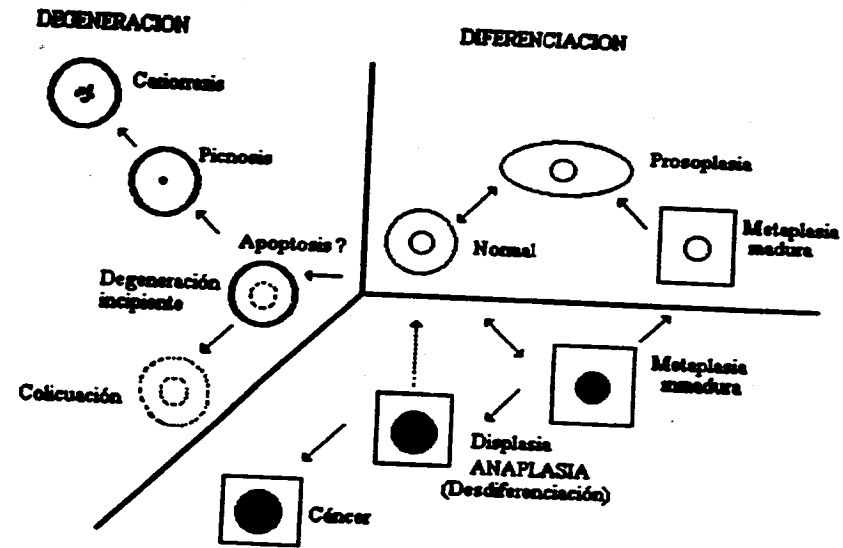


Figura 5. INTERPRETACION CITOPATOLOGICA (Takahashi, 1985)

Los Micronúcleos como Marcadores de Efecto

Los micronúcleos (MN), son fragmentos cromosómicos o cromosomas completos, que no son incorporados en el núcleo hijo durante la división celular, y son incorporados secundariamente a la célula hija, como núcleo(s) muy pequeño(s), consecuencia de rompimiento cromosómico y de no-disyunción debida a mal funcionamiento del huso mitótico (Evans y cols., 1959; Matter y Schmid, 1971; Heddle, 1973; Yamamoto y Kikuchi, 1980) y pueden resultar de la exposición a agentes ambientales (Vine, 1990). Esta prueba, puede por lo tanto detectar potencialmente tanto clastógenos como agentes que afectan la distribución regular de los cromosomas en mitosis. Sin embargo, el ensayo no permite caracterizar la naturaleza del daño nuclear inducido, cualquiera que sea el agente utilizado (Schmid, 1975).

Los MN, son fácilmente detectados en células en interfase como cuerpos intracitoplasmáticos libres (Högstedt, 1984), por lo que permite medir la frecuencia con la cual los cromosomas o fragmentos cromosómicos, se pierden en el citoplasma durante la división celular (Heddle, 1973; Schmid, 1975; Eastmond y Tucker, 1989). De manera que esta prueba, puede ser usada para detectar rompimiento cromosómico o interferencia mitótica (Schmid, 1975), los cuales son eventos relevantes en los procesos carcinogénicos (Jenssen y Ramel, 1980; Land y cols., 1983).

Debido a su gran confiabilidad, junto con gran simplicidad y rapidez de tamizado con respecto a otras pruebas citogenéticas, esta prueba es un indicador cuantitativo de rompimiento cromosómico la cual ha sido validada en más de 100 compuestos químicos genotóxicos y/o carcinogénicos usando varios sistemas biológicos como: cultivos de fibroblastos, hepatocitos, linfocitos, mielo y eritroblastos humanos, mielo y eritroblastos o animales tanto *in vivo* como *in vitro* (Schmid, 1975; Countryman y Heddle, 1976; Schmid, 1976; Heddle y cols., 1978; Ma, 1979; Tates y cols., 1980; De kok y cols., 1985; Nassi y cols., 1987).

La posibilidad de inducir MN por mutágenos en ápices radiculares de *Vicia faba* fue descubierto hace muchos años (Thoday, 1951; Read y Kihlman, 1956), investigaciones posteriores en éste sistema trajeron a la luz las relaciones entre MN y aberraciones cromosómicas después de la irradiación con rayos gama y neutrones rápidos (Evans y cols., 1959). Posteriormente este análisis fue usado como una prueba de mutagénesis (Turchi y cols., 1980).

El uso de la prueba de MN en eritrocitos policromáticos de médula ósea *in vivo* en el ratón, es actualmente reconocido y aceptado como un indicador de daño clastogénico y aneuploidogénico (Matter y Schmid, 1971; Schmid, 1975; Jenssen y Ramel, 1980). Las relaciones entre aberraciones cromosómicas y MN por el método de bloqueo de la citocinesis fue estudiado *in vitro* (Wakata y Sasaki, 1987), en células de Hamster chino tratadas con Mitomicina C y cafeína, se encontró que los MN detectaron 30% de los fragmentos inducidos (Ramalho y cols., 1988), en linfocitos irradiados *in vitro* con rayos-X encontraron que los MN detectaron del 60-90 % de fragmentos inducidos.

Otros tejidos en los que se puede utilizar la prueba de MN, es en células exfoliadas de epitelio de la cavidad oral, la cavidad nasal, los bronquios, el esófago, el cérvix, la vejiga y el tracto urinario. Stich y Stich (1982) desarrollaron esta prueba con el propósito de detectar daño genotóxico en tejidos humanos, los cuales son blanco de carcinógenos organo-específico y en los que se desarrollarán carcinomas. La técnica cuenta además con la ventaja de ser poco invasiva y permitir la realización de muestreos repetidos (Stich y cols., 1983).

El estudio de daño genético por observación directa de cromosomas en metafase puede detectar muchos tipos de cambios cromosómicos estructurales, pero aún no se han desarrollado técnicas efectivas para hacer preparaciones cromosómicas de tejidos epiteliales. Sin embargo, como las células epiteliales no necesitan ser estimuladas, las aberraciones cromosómicas inestables pueden ser estudiadas en células epiteliales por la detección de MN en células en interfase, tanto en secciones tisulares como en células exfoliadas (Stich y cols., 1985; Ribeiro y cols., 1990). La aplicación de la prueba de MN en células exfoliadas de varios tejidos humanos provee evidencia de exposición a carcinógenos y clastógenos, una medición del grado de daño genotóxico, y una estimación de efecto aditivo o intercambio cuando algunos agentes carcinógenos o genotóxicos actúan juntos. Esta prueba puede ser usada para identificar individuos particulares o grupos de población de alto riesgo para desarrollar cáncer. Los MN en células exfoliadas reflejan eventos genotóxicos que ocurrieron en la capa basal en división de las tres últimas semanas (Stich y cols., 1983), estas células de la capa superficial del epitelio son colectadas fácilmente y pueden reflejar daño genotóxico en tejidos epiteliales, que es en donde aparecen cerca del 92% de los cánceres (Cairns, 1975; Rosin y Gilbert, 1990).

Algunos estudios han reportado elevadas frecuencias de células micronucleadas (CMN) en individuos expuestos a sustancias o factores asociados con un riesgo incrementado de cáncer. Muchos de ellos se han realizado en células provenientes de la cavidad oral. Individuos expuestos a carcinógenos orales conocidos, como fumar cigarrillos, mascar tabaco, etc., presentaron una elevada frecuencia de CMN cuando se los comparó con testigos no expuestos (Mandard y cols., 1987; Sarto y cols., 1987). El consumo de alcohol, y tabaco eleva la frecuencia de CMN de una manera directamente proporcional al consumo diario de cigarrillos, lo cual coincide con datos de estudios epidemiológicos que reportan una interacción sinérgica entre alcohol y tabaco en el incremento de riesgo para el cáncer oral (Wynder y cols., 1957). Stich y cols. (1982 a,b) aplicaron la prueba de MN en células exfoliadas del epitelio bucal de fumadores de tabaco de Bihar, India y encontraron una elevada frecuencia en los 27 individuos examinados. También reportaron que en cultivos de fibroblastos de ratón expuestos a extractos acuosos de tabaco hay un incremento de aberraciones cromosómicas y MN.

Las radiaciones ionizantes son inductores conocidos de aberraciones cromosómicas. En células exfoliadas de la cavidad oral obtenidas durante radioterapia, se observó un incremento de (CMN), el que se elevó después de la radioterapia para finalmente disminuir después del final de la radioterapia (Bianchi y cols., 1983).

Por otro lado, la exposición a factores de riesgo de cáncer oral, tales como conservadores y colorantes alimenticios, también inducen elevadas frecuencias de CMN (Stich y cols., 1984).

Los MN que son detectados en células exfoliadas de la vejiga urinaria reflejan aberraciones cromatídicas o cromosómicas, que ocurrieron en la capa basal proliferante. Estas aberraciones inducidas por clastógenos en células basales del epitelio en división, resultan en la producción de MN en las células hijas, las cuales migran hacia arriba a través del epitelio y son exfoliadas (Ribeiro y cols., 1990). Rosin y Gilbert (1990) observaron que no varía significativamente entre individuos testigos, el daño cromosómico evaluado a través de las frecuencias de MN en células exfoliadas de la mucosa oral y de la vejiga urinaria. Similarmente, ambos sitios muestran elevaciones significativas en la frecuencia de CMN en Ataxia-talangiectasia o pacientes de Síndrome de Bloom, padecimientos que presentan una elevada fragilidad cromosómica en otros tejidos. En contraste, los niveles de rompimientos cromosómicos observados en estos dos tejidos epiteliales, cuando existe exposición a carcinógenos puede diferir. En individuos fumadores pero que no consumen alcohol, se observó una elevación en la frecuencia de CMN únicamente en las células del tracto urogenital (Rosin y Gilbert., 1990). La asociación de consumo de alcohol y tabaco eleva significativamente la frecuencia de CMN en la mucosa oral. Según Rosin y Gilbert (1990), ningún agente es efectivo solo y si están presentes alcohol y tabaco la frecuencia de CMN incrementa de manera dosis-dependiente en la cavidad oral variando con el consumo diario de cigarrillos. De acuerdo con esto, Fontham y cols. (1986), reportan un incremento de seis veces en 55 fumadores comparado con lo observado en 65 no fumadores. Reali y cols. (1987), también reportan una elevación significativa ($p < 0.001$) en fumadores comparado con no fumadores.

Algunas parasitosis son consideradas como carcinogénicas, entre ellas la infección por el parásito *Schistosoma haematobium*, comúnmente conocido como esquistosomiasis, incrementa significativamente el riesgo de padecer cáncer de vejiga (Silverman y cols., 1992). Cuando se compararon las frecuencias de MN en células uroteliales exfoliadas en 23 pacientes con esquistosomiasis con las observadas en 15 controles, los individuos infectados presentaron catorce veces más CMN que los individuos sanos (Raafat y cols., 1984). En otro estudio, Rosin y Anwar (1992) reportan un incremento de ocho veces en la frecuencia de CMN en 37 pacientes con esquistosomiasis.

La radiación en la región pélvica incrementa de 2 a 8.7 veces el riesgo de cáncer en la vejiga, dependiendo de la dosis, la edad del paciente, y del tipo de exposición (Silverman y cols., 1992). Coincidiendo con ello, Stich y cols. (1983), observaron una elevación marcada de MN en células exfoliadas de vejiga en un paciente que recibió radiación en la región pélvica.

Como se puede observar en la tabla 6, existen variaciones en las frecuencias reportadas para los grupos testigos. Mucha de esta variabilidad se debe a la falta de rigor con que se determina la frecuencia de MN. Reali y cols. (1987) y Tolbert y cols. (1992) comentan que es necesario analizar un mínimo de 3000 células por sujeto, ya que la presencia de células micronucleadas con un alto grado de certidumbre es baja. Es muy

frecuente también, que aparezcan cuerpos Feulgen positivos (es decir que contienen cromatina) que son en realidad núcleos rotos de granulocitos. Ello es especialmente frecuente en muestras de células uroteliales asociadas a infecciones o inflamaciones asintomáticas (Reali, 1987).

Tabla 6. PREVALENCIA DE CELULAS MICRONUCLEADAS/1000 CELULAS DE DESCAMACION

Tipo de exposición	Tipo celular	Testigos	Expuestos	Referencia
<i>Schistosoma haematobium</i>	Urotelial	5.3	71.7	Raafat y cols., 1984
<i>Schistosoma haematobium</i>	Urotelial	1.2	8.4	Wagida y cols., 1993
Fumadores		0.9	9.5	
No fumadores		1.3	7.9	
Fumadores	Bucal	3.3	26.3	Stich y Rosin, 1983
	Urotelial	0.5	2.9	Fontham y cols., 1986
	Bucal	0.7	2.4	
	Bucal	2.7	22.2	Livingston y cols., 1990
	Urotelial	0.3	2.2	Gonsebatt y cols., 1995
Aminas aromáticas				
Fumadores	Urotelial	3.0	4.2	Ribeiro, 1990
No fumadores		2.6	3.2	
Curtido de pieles				Gonzalez Cid y cols., 1991
Fumadores	Urotelial	9.7	10.5	
No Fumadores		4.0	9.6	
Síndrome de Bloom	Urotelial	6.0	44.4	Rosin y German, 1985
	Bucal	5.0	42.0	
Radioterapia	Bucal	0.3	5.2	Tolbert y cols., 1992
Pesticidas	Urotelial	6.0	33.6	San y cols., 1989
	Bucal	4.0	34.0	
Arsénico	Bucal	0.4	3.4	Gonsebatt y cols., 1995
	Urotelial	0.5	2.2	

PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

Las células de descamación del tracto urinario, especialmente de la vejiga, obtenidas en muestras de orina, representan una fuente valiosa de tejidos en contacto directo con el arsénico. La evaluación de daño cromosómico en las células epiteliales exfoliadas de vejiga utilizando la prueba de MN, resulta relevante no solamente desde el punto de vista mecánico sino porque se podría obtener información acerca de la presencia de daño genético que pueda asociarse a estadios o cambios pre-neoplásicos, importantes desde el punto de vista de la prevención.

HIPOTESIS

La exposición crónica a arsénico a través del agua de bebida, incrementa la frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas de tracto urinario.

OBJETIVOS:

Objetivo general. Evaluar la frecuencia de MN en individuos con elevada ingesta de arsénico, en el agua de bebida.

Objetivos particulares:

1. Utilizar la prueba de micronúcleos, en células uroepiteliales humanas, con el objeto de detectar efectos genotóxicos, debidos a exposición ambiental a arsénico.
2. Evaluar la posibilidad de incluir parámetros de citopatología en la evaluación de las células de descamación.
3. Correlacionar la genotoxicidad con la citopatología.

MATERIALES Y METODOS

Ensayo de micronúcleos

Procedimiento

Las muestras de orina fueron centrifugadas durante 30 min. a 800 X g., el sedimento conteniendo las células descamadas, fue lavado con 10 ml. de NaCl al 0.9%, dos veces, y se dejó durante 20 min. en una solución hipotónica débil (salina: 0.075 M KCl, 4:1; 5 ml.), se fijó en metanol-ácido acético glacial, 3:1 (Reali y cols., 1987), se centrifugó nuevamente durante 10 min a 400 X g., se fijó una vez más en metanol-ac. acético glacial 3:1 y se guardó a 4°C hasta la elaboración de las preparaciones.

Elaboración de las preparaciones

El material fijado se centrifugó durante 10 min. a 400 X g, se retiró el fijador sobrenadante, dejando un volumen aproximado de 0.5 ml., se resuspendió el sedimento celular, el cual se depositó en porta-objetos limpios (Reali y cols., 1987) y se dejaron secar al aire. Las laminillas fueron codificadas para realizar un análisis ciego.

Método de tinción

Las preparaciones, se lavaron en agua destilada durante 5 min. y se hidrolizaron en HCl 1N a temperatura ambiente durante 5 min., en HCl 1N a 60°C por 5 min., se lavaron en agua destilada dos veces y se tificaron con el Reactivo de Schiff de 10 a 20 min., se lavaron durante 30 seg. con agua de la llave y posteriormente con agua destilada durante 5 min., se contrastaron con Verde rápido de 15 a 30 seg., se enjuagaron por 30 seg. con agua de la llave y se dejaron secar al aire (Stich y Rosin, 1983a).

Evaluación microscópica

El análisis microscópico, se realizó con un lente ocular de 10 aumentos y con un objetivo de 40 aumentos. Para apreciar más claramente las células micronucleadas y otras atipias celulares se utilizó el objetivo de 100 aumentos y el condensador de contraste de fases.

Este análisis, se realizó en base a los siguientes criterios: forma y tamaño típico de células uroteliales, núcleo y citoplasma claramente definidos (Reali y cols., 1987).

Los criterios para estimar la frecuencia de células micronucleadas (CMN) fueron los previamente establecidos por (Heddle y Salamone, 1981; Heddle y cols., 1981; Stich y Rosin, 1983a; Livingston y cols., 1990). La norma para identificar y contar MN estuvo basada en tres criterios específicos: 1) morfología, 2) citoquímica, y 3) localización en la

célula. El criterio morfológico incluye textura (comparable a la del núcleo principal), forma (redonda a oval con un límite claro), y tamaño (menor de un tercio del diámetro del núcleo principal). El criterio citoquímico se requiere tinción positiva para ADN basado en la tinción de Feulgen. Finalmente, los MN deben localizarse en el mismo plano focal del núcleo principal pero bien definidos y separados físicamente. Las células con uno o más MN son consideradas como células micronucleadas.

Además de CMN, se tomaron en cuenta otras atipias nucleares, las cuales fueron caracterizadas por Tolbert y cols.(1991):

1. Binucleación o presencia de dos núcleos en una célula.
2. Broken egg (término aplicado por Sarto, 1988) o núcleo cinchado, y que se refiere a un fragmento nuclear unido al núcleo principal por material nuclear.
3. Picnosis o núcleo contraído.
4. Cromatina condensada (la cromatina nuclear aparece agregada).
5. Cariorrhexis, o desintegración nuclear.
6. Cariólisis, o disolución nuclear, en la cual se aprecia un núcleo remanente o fantasma (Feulgen negativo).

El análisis se realiza en un mínimo de 1000 células consecutivas. Cuando la frecuencia de micronúcleos fué menor de 3/1000 se evaluó un máximo de 3449 células para disminuir la probabilidad de que el no encontrar MN, se debiera a un evento azaroso (Tolbert y cols.,1991).

Estudio de exposición a arsénico.

Las poblaciones estudiadas fueron caracterizadas previamente desde el punto de vista demográfico y socioeconómico (García-Salcedo y cols., 1984; Ostrosky-Wegman y cols., 1991).

Individuos a estudiar. Se eligieron dos poblados rurales de la Comarca Lagunera: los habitantes de Santa Ana Coah. se consideraron como los individuos expuestos, ya que la concentración de arsénico en el agua de bebida ha sido superior a los 0.300 mg/L durante los últimos 8 años (Del Razo y cols., 1990). Un grupo de habitantes de Nazareno Dgo. aceptó participar y fueron considerados como la población testigo, ya que durante los últimos dos años los niveles de As en el agua han oscilado entre 0.019 y 0.026 mg/L (Del Razo y cols., 1990). Se tomaron muestras de orina de 30 individuos del poblado expuesto (la mitad aproximadamente tenía signos cutáneos de hidroarsenicismo crónico) y de 31 del

poblado testigo. Se eligieron preferentemente individuos de 20 a 60 años de edad. Se elaboraron historias clínicas, especialmente sobre los aspectos dermatológicos, al interrogarlos mediante cuestionarios que incluían antecedentes ocupacionales, tabaquismo, alcoholismo, tipo de dieta, condiciones socioeconómicas, etc., así como el tiempo de residencia en el lugar.

Criterios de inclusión y exclusión.

Se consideraron los siguientes criterios de inclusión: i) Ser mayor de 20 años. ii) Haber vivido por lo menos 10 años en su respectivo poblado.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes: i) Antecedentes de exposición reciente y directa a plaguicidas, fertilizantes y medicamentos hormonales durante los últimos 3 meses; ii) Ingestión de bebidas alcohólicas durante los últimos 5 días o bien alcoholismo crónico, iii) Individuos que estuvieran bajo tratamiento medicamentoso.

Obtención de las muestras

Las muestras de orina fueron colectadas en frascos de plástico (150 a 250 ml.), de la primera orina de la mañana y se trasladaron a la Cd. de México en hielo. Las muestras fueron procesadas de manera similar a lo descrito anteriormente para la estandarización del ensayo. Una vez realizadas las preparaciones, se tificaron mediante la tinción de Feulgen descrita arriba y se analizaron de manera ciega siguiendo los criterios de evaluación antes descritos. La frecuencia de células con MN fue determinada al analizar por lo menos 1000 células y en nuestro análisis, el número máximo de células evaluadas fue de 3449 .

Análisis citopatológico

Para estudiar la factibilidad de incluir criterios de citopatología en el ensayo de MN en células de descamación, se escogieron al azar 10 preparaciones con material suficiente para realizar en ellas un análisis citopatológico y se tificaron utilizando la tinción de Papanicolaou (Takahashi, 1985).

El análisis citopatológico es una herramienta que evalúa la presencia de atipias celulares o células anormales cuya presencia puede deberse a diversos factores como enfermedades o la exposición a agentes tóxicos. El criterio utilizado para caracterizar a las células epiteliales como anormales es la presencia de:

- una relación núcleo-citoplasma (N/C) incrementada,
- hipercromasia (tinción incrementada),

- cromatina nuclear gruesa e irregular,
- nucleólos ensanchados y,
- polimorfismo en tamaño y forma de células y núcleo (Holmquist, 1988).

Esta evaluación se llevo a cabo tanto en las preparaciones teñidas con Feulgen como por Papanicolaou. El análisis se realizó en todo el material depositado en las laminillas.

Determinación de arsénico en muestras de orina y agua.

Para la determinación de la exposición, se cuantificó el arsénico presente en las muestras de orina y de agua de las poblaciones estudiadas. Esta se llevó a cabo en el Laboratorio de Toxicología del Centro de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV). Brevemente, las muestras fueron digeridas de acuerdo con el método de Cox (1980) y se determinaron por absorción atómica a través de la generación de hidruros. El arsénico inorgánico y las formas metiladas se cuantificaron por la técnica de Foa (1984). Las muestras se analizaron utilizando estándares de referencia de orina para metales tóxicos (SRM 2670).

Análisis de los datos

Se calculó la frecuencia de células micronucleadas (CMN) por 1000 células, obteniéndose los promedios \pm los errores estándar (e.e) por poblado y por poblado y por sexo. Los individuos expuestos se agruparon por presentar o no lesiones de piel. Se utilizaron las pruebas estadísticas de "t" de Student cuando la n fue mayor de 20 y la de U de Mann-Whitney cuando la n fue menor de 20.

También se calculó la frecuencia por 1000 células analizadas de las atipias nucleares (binucleación, cariorrexis, cromatina condensada, nucleos cinchados, cariólisis y picnosis)

Para la evaluación citológica, se tomó en cuenta la presencia de epitelio transicional; ya que su ausencia implica una muestra inadecuada, reacción inflamatoria y grado de alteración en la morfología celular.

RESULTADOS

En las tablas 7 y 8, se muestran los datos en cuanto a edad, sexo, tiempo de residencia, lesiones de piel, así como la frecuencia de CMN, y de las otras alteraciones nucleares consideradas. El promedio y el e.e. de células micronucleadas, en el grupo de individuos testigos fue de 0.48 ± 0.10 mientras que para los expuestos observamos 2.22 ± 0.97 . Cuando se realizó una prueba de "t" de Student de dos colas la diferencia fue estadísticamente significativa entre estos dos grupos con una $p < 0.05$. En la figura (6) se pueden observar las distribuciones de las frecuencias de las CMN para testigos y expuestos y en la tabla 9 se presentan los valores de p para la prueba de "t", al realizar el análisis estadístico. Cuando el número de muestras (n) fue menor de 20, como en el caso en que comparamos las frecuencias entre hombres y mujeres o entre individuos con lesiones de piel y sin lesiones de piel, utilizamos la prueba de U de Mann-Whitney.

Cuando se compararon las frecuencias de las atipias: BN, Car, Clis y CC no encontramos diferencias significativas, ni su presencia pudo ser asociada con la existencia de células micronucleadas ($r^2 = 0.14$, $p > 0.05$). Los individuos expuestos mostraron una mayor frecuencia de células picnóticas ($p < 0.05$) y de núcleos cinchados o broken-eggs, sin embargo esta última resultó marginalmente significativa. Si se suman los núcleos cinchados a la de CMN, ya que parecen eventos que podrían dar origen a MN (Tolbert y cols., 1991), MN+NC resultan estadísticamente significativos (Tabla 9).

En 3 individuos testigos y en 9 expuestos el número de células recuperadas fue insuficiente para el análisis, por lo que el número total de testigos es de 28 (9 hombres y 19 mujeres) y de expuestos es de 21 (7 hombres y 14 mujeres). En todos ellos se analizaron un mínimo de 1000 células y cuando la cantidad de muestra celular lo permitió, se siguió el criterio descrito en Material y Métodos.

Cuando analizamos a los integrantes de los poblados por sexo, no hubo diferencias estadísticamente significativas, entre hombres y mujeres testigos. Entre los pobladores de Santa Ana las mujeres tuvieron una frecuencia marginalmente menor de micronúcleos que los hombres (U de Mann -Whitney de dos colas, $p < 0.1$). Sin embargo, cuando la comparación fue entre poblados (hombres testigos vs hombres expuestos, mujeres testigos vs mujeres expuestas) sí hubo diferencias significativas ($p < 0.05$). Obtuvimos un promedio \pm e.e. de 0.58 ± 0.17 para los hombres testigos y 4.18 ± 2.35 para los hombres expuestos,

mientras que el promedio de CMN en mujeres testigos fue de 0.43 ± 0.12 y en expuestas de 1.24 ± 0.72 .

Al tomar en consideración la presencia de lesiones de piel (las cuales sólo se encontraron en el grupo de expuestas), los individuos sin lesiones presentan un promedio de 1.09 ± 0.37 CMN mientras que los que presentan lesiones tienen un promedio mayor 4.64 ± 2.59 , el cual no resultó estadísticamente significativo (U de Mann -Whitney de dos colas, $p > 0.05$)

Análisis citopatológico

Por medio de esta evaluación pudimos apreciar elementos celulares tanto epiteliales como no epiteliales; los cuales nos permiten valorar la morfología normal, procesos inflamatorios, degenerativos, diferenciación o madurez celular y procesos de desdiferenciación.

La interpretación citológica de 7 testigos y 3 expuestas se muestra en la Tabla 10. La mayoría de las muestras presentaron algún grado de atipia celular, probablemente debidas a infecciones o inflamaciones asintomáticas (Reali, 1987). En el grupo de testigos los más alterados fueron: el individuo 29881 con una discariosis moderada y una gran anormalidad en los citoplasmas lo cual resulta compatible con un efecto citotóxico, relacionado a sustancias tóxicas. Al revisar su historia clínica pudimos ver que se trataba de un sujeto masculino, de 52 años, fumador, con un tiempo de residencia de 52 años, presentó una frecuencia de MN de 0.33, por debajo de la media grupal. El otro testigo 13428, es un sujeto masculino de 42 años con un tiempo de residencia de 42 años que mostró una discariosis de moderada a severa y alteraciones citoplasmáticas lo cual es compatible con la presencia de atipias celulares en grado moderado. Su frecuencia de CMN fue de 0.73 (un 52% por encima de la media grupal). Esta evaluación se realizó utilizando la tinción de Feulgen y la de Papanicolaou encontrándose una buena correlación.

En la muestra correspondiente al código 83463, pudimos apreciar discariosis acentuada, citoplasmas anormales, hiper cromasía, hiperqueratosis, nucléolos evidentes y una metafase. Lo cual fue compatible con un diagnóstico de *Displasia severa de células transicionales*. Al revisar la historia clínica nos pudimos dar cuenta que se trataba de un individuo de sexo masculino, de 28 años de edad, correspondiente al grupo de expuestas, el cual presentó lesiones de piel, tiempo de residencia en el poblado de 10 años;

coincidentalmente, fue el individuo que mostró la frecuencia más elevada de MN, asimismo la frecuencia de BN y CC se mostró incrementada

Marcadores de exposición

Las muestras de agua de Santa Ana tuvieron un promedio y una desviación estándar (d.e) de arsénico total de $420.0 \pm 16.0 \mu\text{g/L}$, mientras que las de Nazareno promediaron $37.2 \pm 18.0 \mu\text{g/L}$ como se puede observar en la Tabla II. El agua de Santa Ana contiene en promedio, 11 veces más arsénico que el de Nazareno. En las muestras de orina se obtuvo un promedio y una d.e. de $36.7 \pm 36.7 \mu\text{g/L}$ de arsénico total, en los individuos testigos y de $758.4 \pm 364.0 \mu\text{g/L}$ en los expuestos. La prueba de U de Mann-Whitney de dos colas ($p < 0.01$), mostró significancia para ambos marcadores de exposición (arsénico en muestras de agua y de orina).

DISCUSION

De acuerdo a su definición, los marcadores de efecto identifican cambios asociados a la exposición. En el caso de sustancias carcinogénicas es de gran importancia lograr identificar alteraciones tempranas que nos permitan prevenir un daño más severo y evitar la progresión hacia la etapa irreversible (cáncer).

La valoración del daño genético mediante la prueba de micronúcleos y el análisis citopatológico que realizamos en una submuestra, permiten concluir que la exposición crónica a altos niveles de arsénico en el agua de bebida, indujo MN y atipias celulares en células del tracto urinario, lo que indica que este tejido está siendo afectado. Algunos individuos, especialmente los hombres, tuvieron una mayor proporción de células micronucleadas. Esto coincide con los hallazgos reportados por Gensebatt (1994) en donde, los hombres expuestos también presentaron una mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos, que las mujeres. Chen y Wang (1990) opinan que los hombres beben más agua que las mujeres lo que haría que su exposición fuese mayor y podría explicar el que, tanto en los linfocitos como en las células epiteliales de vejiga de los hombres, se observe un mayor daño.

Las células epiteliales se renuevan cada 2-3 semanas, mientras que los linfocitos pueden llegar a vivir varios años, por lo que el tipo de daño que observamos en las células epiteliales puede corresponder a eventos más recientes y esto es importante, porque el período de latencia entre la exposición y la aparición de biomarcadores de efecto genotóxico, son relativamente cortos (Smith y cols., 1993). Además el poder realizar un ensayo de genotoxicidad en células epiteliales de descamación, tiene una gran relevancia porque en este tipo de tejidos aparece cerca del 92% de los cánceres (Caims, 1975; Rosin y Gilbert, 1990). La prueba de MN puede evaluar entonces, el daño en el órgano blanco de interés; con la ventaja de que la obtención de la muestra es sencilla, no invasiva, el análisis no es complicado y tiene una gran sensibilidad (Stich, 1983). Por todo esto, resulta ideal para el monitoreo de grupos en riesgo carcinogénico, pudiendo reemplazar a la prueba de aberraciones cromosómicas en estudios epidemiológicos.

El análisis citopatológico complementa la información que se obtiene a través de la prueba de MN, ya que posibilita, por ejemplo, la descripción y evaluación de cambios en la estructura nuclear y en la relación nucleo-citoplasma, alteraciones vinculadas con procesos que modifican la homeostasis tisular. Algunos agentes que dañan el ADN como el

cisplatino, la vincristina, la radiación ultravioleta o la radiación ionizante inducen la muerte celular "programada" o apoptosis, modificando la tasa normal de recambio de un tejido. En el caso de las células que se queratinizan y se descaman como las epiteliales, el fenómeno apoptótico tendría características particulares que permiten postular a la cariorresis como un estadio vinculado o comparable al apoptótico observado en tejidos embrionarios, hematopoyéticos o en líneas celulares (Budtz, P.E., 1994). La vinculación de este tipo de muerte celular con la exposición a agentes tóxicos resulta también de valor diagnóstico, ya que ello indicaría que se estaría alterando la homeostasis en la cinética tisular al provocar un aumento en la proporción de células muertas en este tejido, lo que provocaría que: a) las células de la capa basal deberán reemplazarlas incrementando su proliferación y b) si la muerte celular es elevada, las capas basales que son las que proliferan, estarán más expuestas a los agentes tóxicos.

Finalmente, el análisis citopatológico permite la distinción del tejido alterado o transformado, como lo demuestra el caso del individuo con la mayor frecuencia de MN y un diagnóstico citopatológico compatible con displasia severa de células transicionales.

El seguimiento de los individuos más afectados es la medida indicada desde el punto de vista preventivo, ya que como se discutió antes, el daño cromosómico puede indicar el inicio de un proceso de carcinogénesis.

El análisis citológico arrojó atipias celulares tanto en testigos, como en expuestos; el origen de las atipias ligeras puede deberse a que las muestras de orina no se preservaron adecuadamente para este tipo de examen como es el hecho de que algunas orinas fueron congeladas y que en ningún caso se agregaron inhibidores de la proliferación bacteriana, para que no interfiriera con la determinaciones de arsénico. Sin embargo, el hecho que se hayan obtenido preparaciones analizables, demuestra que este examen es compatible con el ensayo de MN, y que ambos fueron indicadores sensibles de la exposición a arsénico a través del agua de bebida, lo cual los convierte en herramientas útiles para el monitoreo de grupos en riesgo.

CONCLUSIONES

- El grupo de individuos expuestos crónicamente a niveles por encima de los 0.300 mg/L de arsénico a través del agua de bebida, presentan una elevación en la frecuencia de MN en las células de descamación del tracto urogenital, cuando se los compara con un grupo de individuos similares pero con exposición a niveles recomendados.
- Los hombres se encuentran más afectados que las mujeres.
- El análisis citológico complementa la información obtenida por el ensayo de MN, ya que permite determinar cambios en la morfología urotelial, reacciones inflamatorias y la presencia de otros elementos celulares tanto epiteliales como no epiteliales, de una manera técnicamente sencilla, repetible y exacta (Takahashi, 1985).

PERSPECTIVAS

- Dado que el análisis citológico se realizó en una submuestra al azar de 10 individuos, es necesario incluirlo en todos los individuos que participen en un monitoreo que utilice tejidos de descamación.
- Alertar al (los) individuo (s) más afectados para su tratamiento.
- Realizar pruebas morfológicas y bioquímicas para evaluar si el origen de los núcleos cariorréticos es una muerte celular programada o apoptosis.
- El ensayo de MN demostró su sensibilidad para niveles de exposición que son superiores en casi un orden de magnitud con respecto a los niveles recomendados por las agencias internacionales (WHO, 1995), por lo que resulta importante investigar su sensibilidad para niveles de exposición menores.

REFERENCIAS

- Ancel, P. (1946). Recherche experimentale sur la spina bifida. Arch Anat Microsc Morphol Exp., 36, 45-68.
- Argüello, R. A., D. D. Cenget y E. E. Tello. (1938). Cancer y arsenicismo regional endémico en Córdoba. Rev. Argent. Dermatosisifilol., 22, 461-487.
- Ashby, J y Richardson C.R. (1985). Tabulation and assessment of 113 human surveillance cytogenetic studies conducted between 1965-1994. Mutat Res., 154, 111-133.
- ATSDR. (1989). Toxicological Profile for Arsenic, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) U.S. Public Health Service, Oak Ridge National Laboratory, USA.
- Bahrenberg, L.H.B. (1895). On the diagnostic result of microscopic examination of the ascitic fluid in two cases of carcinoma involving the peritoneum. Cleveland Medical Gazette, II: 274.
- Baroni, C., Van Esch, G. J., y Saffiotti, U. (1963). Carcinogenesis tests of two inorganic arsenicals. Arch. Environ Health, 7, 668.
- Bates, M. N., Smith, A. H. y Hopenhayn-Rich, C. (1992). Arsenic ingestion and internal cancers: A review. Am. J. Epidemiol, 135, 462-476.
- Beale, L.S. (1860). Examination of sputum from a case of cancer of the pharynx and the adjacent parts. Archives of Medicine. London, 22, 44.
- Bencko, V. (1987). Arsenic, en: Genotoxic and Carcinogenic Metals: Environmental and Occupational Occurrence and Exposure, Fishbein, L., Furst, A. and Mehlman, M.A. Eds. Princeton Scientific Publishing Co, Princeton, New Jersey, pp 1-30.
- Bergolio, R.M. (1964). Mortality from cancer in regions of arsenical waters of the province of Cordoba Argentine Republic. Prev. Med. Argent., 51, 994-998.
- Bertolero, F., G. Pozzi, E. Sabbioni y U. Saffiotti. (1987). Cellular uptake and metabolic reduction of pentavalent to trivalent arsenic as determinants of cytotoxicity and morphological transformation. Carcinogenesis, 8, 803-808.
- Betschardt, Erasmus. (1895). Ueber die Diagnose maligner Lungentumoren aus dem Sputum. Virchows Arch. F. Path. Anat., 142, 86-100.
- Biagini, R.E. (1972). Hidroarsenicismo crónico y muerte por canceres malignos. La Semana Medica, 141, 812-816.
- Bianchi, V., A. Zantedeschi y A.G. Levis. (1983). The scintil-lometric evaluation of DNA repair synthesis can be distorted by changes of thymidine pool radioactivity. Chem. Biol. Interact., 43, 17-31.

- Boutwell, R. K. (1963). A carcinogenicity evaluation of potassium arsenite and arsenilic acid. *J Agr Food Chem.*, 11, 381.
- Bracho, A. R. (1971). Arsenismo crónico en la Comarca Lagunera de Coahuila. Tesis Recepcional, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Coahuila, México.
- Bradley, M., Schuman, G.B., Ward, PCJ. (1979). Examination of urine. Henry, J.B., (ed) *Todd-Sanford-Davidson's Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 16th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 559-634.
- Braman, R. S. y Foreback, C. C. (1973). Methylated forms of arsenic in the environment. *Science*, 182, 1247-1249.
- Broecker, B. H., Klein, F. A., Hackler, R. H. (1981). Cancer of the bladder in spinal cord injury patients. *J. Urol.*, 125, 196-197.
- Bryson, P. D. (1989). *Comprehensive Review in Toxicology 2a*. ed Aspen Publishers, Inc. Rockville, Maryland Royal Tunbridge Wells., 53-60, 501-508.
- Buchet, J. P., Lauwerys, R. y Roels, H. (1981). Urinary excretion of inorganic arsenic and its metabolites after repeated ingestion of sodium metaarsenite by volunteers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 48, 111.
- Buchet, J.P. y Lawerys, R. (1987). Study of factors influencing the *in vivo* methylation of inorganic arsenic in rats. *Tox Appl Pharmacol.*, 91, 65-74.
- Budtz, P.E. (1994). *Epidermal Homeostasis: A new Model that includes apootosis, en Apoptosis II: The molecular basis of apoptosis in disease*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp 165-183.
- Burns, L.A.y Munson, A.E. (1993). Gallium arsenide selectively inhibits T cell proliferation and alters expression of CD25 (IL-2R/p55), *J.Pharmacol Exp. Therapeutics*, 225, 178-186.
- Cairns, J. (1975). Mutational selection and the natural history of cancer. *Nature (London)*, 255, 197-200.
- Cantley, L. C., Resh, M.D., y Guidotti, G. (1978). Vanadate inhibits the red cells (Na⁺, K⁺) ATPase from the cytoplasmic side. *Nature*, 272, 552.
- Castellano, A. L., Viniegra, G., Eslava, G. R., y Álvarez, A. J. (1964). El arsenicismo en la Comarca Lagunera. *Salud Publ. Mex.*, 6, 375-385.
- Chávez, A., Pérez, C., Tovar, E., y Gramilla, M. (1964). Estudios en una comunidad con arsenicismo crónico endémico. *Salud Publ Mex.*, 6(3), 421-433.
- Chen, C-J. y Wang, C-J., (1990). Ecological correlation between arsenic level in well water and age-adjusted mortality from malignant neoplasms. *Cancer Res.*, 50, 5470-5474.

Cherian, G. (1987). Metallothionein and metal toxicity. CRC Press Boca Raton, FL, USA., pp. 2223-2224.

Cohen, J.S., Knop, R.H., Navon, G. y Foxall, D. (1983). Nuclear magnetic resonance in biology and medicine. *Life Chem.Repts.*, 1, 281-457.

Connery, D. B., (1953). Leukoplakia of the urinary bladder and its association with carcinoma. *J Urol.*, 69, 121-127.

Cotter, T.G., Lennon, S.V., Glynn, J.M. y Green, D.G. (1992). Microfilament-disrupting Agents Prevent the Formation of Apoptotic Bodies in Tumor Cells Undergoing Apoptosis. *Cancer Res.* 52, 997-1005.

Countryman, P. I., y J. A. Heddle. (1976). The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat. Res.*, 41, 321-332.

Cox, D.H.(1980). Arsenic evolution-electrothermal atomic absorption method for the determination on nanogram levels of total arsenic in urine and water. *J. Anal. Toxicol.*, 4, 207-211.

Crabbe, JGS, Cresdee WC, Scott. T.S. Williams MHS. (1956). The cytologic diagnosis of bladder tumors amongst dyestuff workers. *Br J Ind Med.*, 13, 270-276.

Crabbe, JGS. (1962). Exfoliative cytological control in occupational cancer of the bladder. *Br Med J.*, 2, 1072.

Creclius, E. A. (1977). Arsenite and arsenate levels in wine. *Bull Environ Contam. Toxicol.*, 18, 227.

Cuzick, J., Sasieni, P., y Evans, S. (1992). Ingested arsenic, keratoses, and bladder cancer. *Am. J. Epidemiol.*, 136(4), 417-421.

Deknadt G., Leonard A., Arany J., Buisson G., Delavignette E. (1986). In vivo studies in male mice on the mutagenic effects of inorganic arsenic. *Mutagenesis*, 6, 33-34.

De kok, A. J., A.D. Tate, L. Den Engelse y J. W. I. M. Simons. (1985). Genetic and molecular mechanisms of the in vitro transformation of *Syria hamster* embryo cells by the carcinogen N-ethyl-n-nitrosourea. I. Correlation of morphological transformation and enhanced fibrinolytic activity to gene mutation, chromosomal alterations and lethality. *Carcinogenesis*, 6, 1565-2627.

Del Razo, L. M., Arellano, M. A. y Cebrián, M. E. (1990). The oxidation states of arsenic in well-water from a chronic arsenicosis area of northern Mexico. *Environ. Pollut.*, 64, 143-153.

Dickinson, W.H. (1869). Portions of a cancerous growth passed by the uretra. *Tr. Path. Soc. London*, 20, 233-237.

Dorfman, H. D., y Monis, B. (1964). Mucin-containing inclusions in multinucleated giant cells and transitional epithelial cells of urine: Cytochemical observations on exfoliated cells. *Acta Cytol.*, 8, 293.

Eastmond, D. A., y Tucker, J.D. (1989). Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochores antibody. *Environ. Mol. Mut.*, 13, 34-43.

Elinder, C-G, Gerhardsson, L. y Oberdoerster, G. (1987). Biological monitoring of toxic metals, en: T.W. Clarkson, L. Fiberg, G.F. Nordberg y P.R. Sager (Eds.). *Biological Monitoring of Toxic Metals*, Plenum Press, New York. pp 1-71.

El-Sadek, L.M. (1972). Mitotic inhibition and chromosomal aberrations induced by some arylarsenic acids and its compounds in root-tips of maize. *Egypt J Genet Cytol.*, 1, 218-224.

Evans, H. J., G. J. Neary y F. S. Williams (1959). The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen, II. Chromosome damage: the production of micronuclei. *Int J Radiat Biol.*, 3, 216-229.

Ferguson, Frank. (1892). The diagnosis of tumors of the bladder by microscopical examination. *Proc.N.Y. Path. Soc.*, pp.71-73.

Ferm, V. H., A. Saxon y B. W. Smith. (1971). The teratogenic profile of sodium arsenate in the golden hamster. *Arch Environ Health*, 22, 557-560.

Ferm, V. H. (1977). Arsenic as a teratogenic agent. *Env Healt Persp.*, 19, 215-217.

Fishbein, L., Furst, A., Mehlman, M.A. (1987). *Genotoxic and carcinogenic metals: environmental and occupational occurrence and exposure*. Princeton Scientific Publishing Co. Inc. U.S.A., 109-200.

Foa, B., Colombi, A., Maroni, M., buratti, M. y Calzaferri, G.(1984).The spetiation of the chemical forms of arsenic in the biological monitoring of exposure to inorganic arsenic, *Sci. Total Environ.*, 34, 241-259.

Fontham, E., Correa, P., Rodriguez, E., y Lin, Y. (1986). Validation of smoking history with the micronuclei test. *Mechanisms in Tobacco Carcinogenesis*, Banbury Report No. 23, eds: D.Hoffman y Harris, pp. 113-119. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Frost, D.V. (1983). What do losses in selenium and arsenic bioavailability signify for health?. *Sci Tot Environ.*, 20, 455-466.

Galy, P., Touraine, R., Brune, J., Roudier, P., y Gallois, P. (1963). Le cancer pulmonaire d'origine arsenicale des vigneronns du Beaujolais. *J.Fr. Med. Chir. Thorac.*, 17, 303-311.

García Salcedo, J.J., Portales, A., Blakely, E., y Díaz, R. (1984). Estudio transversal de una cohorte de pacientes con vasculopatía por intoxicación crónica arsenical en poblados de los

municipios de Francisco I. Madero y San Pedro, Coah, México. Rev. Fac. Med. (Torreón), 1, 12-16.

Gelfand, M., Wenberg, R. W., y Castle, W. M. (1967). Relation between carcinoma of the bladder and infestation with *Schistosoma haematobium*. Lancet, 1, 1249-1251.

Geyer, L.(1898). Uber die chronische Arsenvergiftung der Winzer. Arzt Wschr., 4, 365-369.

Gibaldi, M. y Perrier, D. (1982). Pharmacokinetics, 2da ed., New York, Marcel Dekker, pp 459.

Goldblatt, E.L., A.S. Vandeburgh y R.A. Marsland. (1963). The usual and widespread occurrence of arsenic in well waters of Lane County. Oregon Department of Health, Portland,OR.

Gonsebatt, M.E., Vega,L.,Herrera,L.A.,Montero,R., Rojas, E., Cebrián, M.E. y Ostrosky-Wegman, P. (1992). Inorganic arsenic effects on human lymphocyte stimulation and proliferation. Mutat Res., 283, 91-95.

Gonsebatt, M.E.(1994).Marcadores biológicos de exposición a arsénico inorgánico.Tesis doctoral, Facultad de Ciencias, U.N.A.M.

Gonsebatt, M.E., Vega, L., Guzmán, P., Blas, J., Montero, R., Albores, A., García Vargas, G., Del Razo, L.M., Cebrián, M.E. y Ostrosky-Wegman, P. Genotoxicity of Arsenic Exposure (1995). Manuscrito en preparación..

Graham, R. M.with members of the Vincent Memorial Laboratory Staff. (1954). The cytological diagnosis of cancer Philadelphia, W. B. Saunders Co.

Graff, L.S.(1987). Análisis de orina: Atlas Color.(ed) Médica Panamericana. Buenos Aires.pp.222.

Hampeln, P. (1876). Sarcom der Lunge. St. Petersb. Med. Wchnschr., 1, No. 40, 1-2.

Hampeln, P. (1887). Ueber einem Fall von primären Lungen-Pleura-Carcinom. St. Petersb. Med. Wchnschr., 12, 137-139.

Harden, D G. (1990). The molecular basis for unherited susceptibility to and action of carcinogens, en: G N·Volans, J. Sims, F M Sullivan y P Turnes (eds.) Basic Science in Toxicology, Proceedings of the V International Congress of Toxicology, Taylor and Francis, London. New York, Philadelphia, pp 7-21.

Harman, J.W., y Hogan, J. M. (1949). Multinucleated epithelial cells in the tubules of the human kidney. Arch Path., 47, 29.

Heddle, J.A. (1973). A rapid *in vivo* test for chromosomal damage. *Mutat. Res.*, 18: 187-190.

Heddle, J.A., R.D. Benz, and P.I. Countryman (1978). Measurement of chromosomal breakage in cultured cells by the micronucleus technique. In *Mutagen-Induced Chromosome Damage in Man*, H.J. Evans and D.C. Lloyd, eds. Edinburgh University Press, Edinburgh, 191.

Heddle, J.A. Raj, A.S., y Krepinsky, A.B. (1981). The micronucleus assay. II. in: H.F. Stich y R.H.C. San (ed), *Short-term tests for Chemical carcinogens*, pp.250-254. Springer-Verlag, Berlin. N.Y.

Heddle, J.A., y Salamone, M. F. (1981). The micronucleus assay. I. *In vivo*. In : H:F: Stich y R:H:C: San (ed.), *Short term test for chemical carcinogens*, pp. 243-249, Springer-Verlag, Berlin. New York.

Hilborn, D.A. (1976). Serum stimulation of phosphate uptake into 3T3 cells. *J.Cell.Physiol.* 87: 111.

Högstedt, B. (1984). Micronuclei in lymphocytes with preserved cytoplasm. A method for assessment of cytogenetic damage in man. *Mutat Res.*, 130, 63-72.

Holmquist, N.D. (1988). Detection of urinary tract cancer en urinalysis specimens in an outpatient population. *Am J Clin Pathol.*, 89, 499-504.

Hood, R. D., y S. L. Bishop. (1972). Teratogenic effects of sodium arsenate in mice. *Arch Environ Health*, 24, 62-65.

Hood, R. D., W. P. Harrison, y G. C. Vedel. (1982). Evaluation of arsenic metabolites for prenatal effects in the hamster. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 29, 679-687.

Hueper, W. C., y Payne, W. W. (1962). Experimental studies in metal carcinogenesis. chromium, nickel, iron, arsenic. *Arch Environ Health*, 5, 445.

Hulka, B. S., (1990). Overview of biological markers. In *Biological Markers in Epidemiology*, eds. B. Hulka, T. Wilcolsky, y J.Griffith, pp. 1-15. New York. Oxford University Press.

IARC (1980). Monograph on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some metal and metallic compounds, Vol. 23, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

IARC (1987). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, suppl 7, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

IARC (1992). Mechanisms of carcinogenesis in risk identification, Vainio, H., MaGee, P., McGregor, D., McMichael, A.J., (Eds.), International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

Jennette, K. W. (1981). The role of metals in carcinogenesis: biochemistry and metabolism. *Environ Health Perspect.*, 40, 233.

Jenssen, D. y Ramel, C. (1980). The micronucleus test as part of a short-term mutagenicity test program for the prediction of carcinogenicity evaluated by 143 agents tested. *Mutat Res.* 75, 191-202.

Johnson, W.D. (1964). Cytopathological correlations in tumors of the urinary bladder. *Cancer*, 17, 867-880.

Jung, C., y Rothstein, A. (1965). Arsenate uptake and release in relation to the inhibition of transport and glycolysis in yeast. *Biochem. Pharmacol.*, 14, 1093.

Junqueira, L.C., J: Carneiro (1979). *Histología básica*, Salvat Editores, S.A.

King, H., y R. J. Lundford. (1950). The relation between the constitution of arsenicals and their action on cell division. *J Chem Soc.*, 8, 2086-2088.

Klassen, C.D. y Eaton, D.L. (1991). Principles of Toxicology, en: Casarett and Doull's Toxicology. The basic science of Poisons, M.O. Amdour, J. Doull y C.D. Klassen (Eds.), Pergamon Press 4ta ed, ew York, U.S.A., pp 12-49

Koss, L.G. (1968). *Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases*. Philadelphia, J.B.Lippincott Company.

Kyprianou N, English H F, Isaacs J T (1990). Programmed cell death during regression of PC-82 human prostate cancer followin androgen ablation. *Cancer Res.*, 50:3748-53.

Land, H., Parada, L. F. Weinberg, R. A. (1983). Cellular oncogenes and multistep carcinogenesis. *Science*, 222, 771-778.

La Vecchia, C., Negri, E., D'Avanzo, B., Savoldelli, R., y Franceschi, S. (1991). Genital and urinary tract disease and bladder cancer. *Cancer Res.*, 51, 629-631.

Lanz, H., Jr., Wallace, P.W., y Hamilton, J. G. (1950). The metabolism of arsenic in laboratory animals 74 As as a tracer. *Univ. Calif. Pub. Pharmacol.*, 2: 263.

Lazdunski, C., y Lazdunski, M. (1966). Étude cinétique du mécanisme d'action catalytique de la phosphatase alcaline d'*Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta.* 113: 551.

Leeson, T.S., Leeson, C. R., Paparo, A:A: (1989). *Texto/Atlas de histología*. (ed). Interamericana, S:A:Mc Graw Hill. Inc., Impreso en México. 741pp.

Legator, M.S y Au W W. (1994). Application of integrated genetic monitoring: The optimal approach for detecting Environmental Carcinogens. *Env. Health Persp.*, 102: 9, 125-132.

Léonard, A., y Lauwerys, R. R. (1980). Carcinogenicity, teratogenicity and mutagenicity of arsenic. *Mutat Res.*, 75: 49-62.

Lerman, S. y Clarkson, T. (1983). The metabolism of arsenite by rat. *Fund Appl Toxicol.*, 3, 309-314.

Levan, A. (1945). Cytological reactions induced by inorganic salt solutions, *Nature (London)*, 156, 751-752.

Li, J-H y Rossman, T.G. (1989). Inhibition of DNA ligase activity by arsenite: a possible mechanism of its comutagenesis. *Molec. Toxicol.*, 2, 1-9.

Lindeberg, S. E., Andrews, A. W., Aridon R.J., Fulkerson W. (1975). Mass balance of trace elements. *Env Health Persp.*, 12, 9-18.

Livingston GK, Reed RN, Olson BL, y cols. (1990). Induction of nuclear aberrations by smokeless tobacco in epithelial cells of human oral mucosa. *Environ Mol Mutagen.*, 15, 136-144.

Lücke, A. y E. Klebs. (1867). Beitrag zur Ovariectomie und zur Kenntnis der Abdominalgeschwülste. *Virchows Arch. F. Path. Anat.*, 41:1-15.

Ma, T. H. (1979). Micronuclei induced by X-rays and chemical mutagens in meiotic pollen mother cells of *Tradescantia*, A promising mutagen test system. *Mutat Res.*, 64, 307-313.

Macfarlane, E. W. E. (1966). The appearance of multinucleated cells in the urine after purgation. *Acta Cytol*, 10, 104.

Mandard, A.M., F. Duigon, J. Marnay, Ph. Masson, Q. Song-Lang, Y. Jing-Shu, P. Barrellier and G. Lebigot (1987). Analysis of the results of the micronucleus test in patients presenting upper digestive tract cancers and in non-cancerous subjects. *Int. J.Cancer*, 39, 442-444.

Marafate, E. y Vahter, M. (1984). The effect of methyltransferase inhibition on the metabolism of ⁷⁴As arsenite in mice and rabbits. *Chem Biol Interact.*, 50, 49-57.

Martell, A. (1981). Chemistry of carcinogenic metals. *Environ Health Perspect.* 40, 207.

Matanoski, G.M. y Elliot, E.A. (1981). Bladder cancer epidemiology. *Epidemiol Rev.*, 3, 203-229.

Matter, B., y W. Schmid. (1971). Trenimon induced chromosomal damage in bone marrow cells of six mammalian species, evaluated by the micronucleus test. *Mutat Res.*, 12, 417-425.

Mc Queen, E.G. y Sydney, M.B. (1966). Composition of urine casts. *Lancet*, 1, 397-398.

Melamed, MR, Koss LG, Ricci A, Whitmore WF: (1960). Cytohistological observations on developing carcinoma of the urinary bladder in man. *Cancer*, 13: 67-74.

Melamed, M. R., y Wolinska, W. H. (1961). On the significance of intracytoplasmic inclusions in urinary sediment. *Am J Path.*, 38, 711.

Ménétiér, P. (1886). Cancer primitif du poumon. *Bull Soc. Anat de Paris*, 61, 643-647.(4th series, Vol II).

Milner, J. E. (1969). The effect of ingested arsenic on methylcholanthrene-induced skin tumors in mice. *Arch environ Health*, 18, 7.

Mustacchi, P., y Shimkin, M. B. (1958). Cancer of the bladder and infestation with *Schistosoma haematobium*. *J. Natl Cancer Inst.*, 20, 825-842.

NAS. (1977). Medical and Biologic effects of environmental pollutants, arsenic national research council. National Acad. Of Sci., Washington, D.C., U.S.A.

Nassi, L., B. Epe, D. Schiffmann, W. Adam, A. Beinhauer y A. Griesbeck (1987). Induction of morphological transformation and micronuclei in *Syriam hamster* embryo fibroblasts by 1,2 dioxetanes. Correlation with DNA single strand breaks in HL-60 cells. *Carcinogenesis*, 8: 947-953.

NIH (National Institute for Environmental Health) Task Force 3. (1985). *Biochemical and Cellular Markers of Chemical Exposure and Preclinical Indicators of Disease*, Washington, D.C., U.S. Department of Health and Human Services.

Nordenson, I. y Beckman, G. (1978). Occupational and environmental risk in and around a smelter in northern Swedan. *Hereditas*, 88: 47-50, 263-267.

NRC. (1989). National Research Council. *Biological Markers in Reproductive Toxicology*, Comission on Life Sciences, National Academic Press, Washington, D.C, pp. 15-29.

NRC (1992). National Research Council. Commission on Life Sciences, Board on Environmental Studies and Toxicology, Subcommittee on Immunotoxicology Committee on Biological Markers. *Biological Markers in Immunotoxicology*, National Academic Press, Washington, D.C., pp 68-71.

Nygren, A. (1949). Cytological studies of the effects of 2,4-DMCPA y 2,4,5-T on *Allium cepa*. *Ann Roy Coll (Swedan)*, 16, 273-278.

Okui, T. y Fujiwara, Y. (1986). Inhibition of human excision DNA repair by inorganic arsenic and the co-mutagenic effect in V79 chinese hamster cells. *Mutat Res.*, 172, 69-76.

Omenn, G.S. (1986). Susceptibility to occupational and environmental exposure to chemicals, *Prog. Clin. Biol. Res.*, 214, 527-545.

Oppenheim, J. J., y W. N. Fishbein. (1965). Induction of chromosome breaks in cultured normal human leukocytes by potassium arsenite, hydroxyurea and related compounds. *Cancer Res.*, 25, 980-985.

Ostrosky-Wegman, P., Gonsebatt, M.E., Montero, R., Vega, L., Barba, H., Espinosa, J., Palao, A., Cortinas, C., García-Vargas, G., del Razo, L.M. y Cebrián M. (1991).

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

59

Lymphocyte proliferation kinetics and genotoxic findings in a pilot study on individuals chronically exposed to arsenic in Mexico. *Mutation Res.*, 250, 477-482.

Ostrosky P., Cebrian M.E., Kelch M. (1995). Technical Report RP 3370-11 on Risk Evaluation of Chronic Exposure to Hydroarsenicism in Mexico, Electric Power Research Institute., in press.

Pagano, G., A. Esposito, P. Bove, M. de Angelis, A.Rota, E. Vamvakinos y G. G. Giordano. (1982). Arsenic induced developmental defects and mitotic abnormalities in sea urchin development. *Mutat Res.*, 104, 351-354.

Papanicolaou, G. N. y Marshall, V. F. (1945). Urine sediment smears as a diagnostic procedure in cancers of the urinary tract. *Science*, 101, 519-521.

Paton, G. R., y Allison, A. C. (1972). Chromosome damage in human cell cultures induced by metal salts. *Mutat. Res.*, 16, 332.

Pearson, J. C., Kromhout, L., King, E. B. (1981). Evaluation of collection and preservation techniques for urinary cytology. *Acta Cyt.*, 25(3), 328-333.

Petery, J. Rennert, O. Choi H, y cols: (1970). Arsenic poisoning in childhood. *Clin Toxicol.*, 3, 519-526.

Petres, J., Baron, D. y Hagerdorn, M. (1977). Effects of arsenic on cell metabolism and cell proliferation: cytogenetic and biochemical studies. *Environ. Health Perspect.*, 19, 223-227.

Piantadosi, S. y Sullivan J.B. (1992). Chemical and Environmental Carcinogenesis en: *Hazardous materials toxicology Sullivan y Krieger Eds., Williams and Wilkins, Baltimore pp 77-90.*

Pindborg, J. J., Path, F. R., Reibel, J., Roed-Petersen, B., y Metha, F.S. (1980). Tobacco-induced changes in oral Leukoplakic Epithelium. *Cancer*, 45, 2330-2336.

Polak, M. S., Weber, C. H. Jr., Williams, J.E. III, y Cols. (1976). Chronically infected and post-diversionary bladder. *Urology*, 8, 531-535.

Pomroy, C., Charbomeau, S. M., Mc. Cullough, R. S., Tam, G. K., (1980). Human retention studies with As 74. *Toxicology and Applied Pharmacology.*, 53, 550-556.

Pouchet, F. A. (1847). *Théorie positive de l'ovulation spontanée et de la fécondation des mamifères et de l'espèce humaine, basée sur l'observation de toute la série animale.* Paris.

Quincke, H. (1875). Ueber fetthaltige Transsudate. *Hydrops chylosus und Hydrops adiposus.* *Deutsches Arch F Klin Med.*, 16, 121-139.

Quincke, H: (1882). Ueber die geformten Bestandtheile von Transudaten. *Deutsches Arch F Klin Med.*, 30:580-588.

Raafat, M., El- Gerzawi, S., y Stuch, H.F. (1984). Detection of mutagenicity in urothelial cells of bilharzial patients by "the micronucleus test". J. Egypt. Natl. Cancer. Inst., 1:(3), 63-67.

Race, G.J., White, M:G: (1979). Basic urinalysis. San Francisco: Harper y Row.

Ramalho, A., Sunjevaric I., Natarajan, A.T. (1988). Use of the frequencies of micronuclei as quantitative indicators of X-ray-induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes: camparison of two methods. Mutat Res., 207, 141-146.

Reali, D., Marino, F.D., Bahramandpour, S., Carducci, A., Barale, R., y Loprieno, N. (1987). Micronuclei in exfoliated cells and urine mutagenicity in smokers. Mutat. Res., 192, 145-149.

Read, J., y B. A. Kihlman. (1956). Comparison of the effects of 8-ethoxycaffeine and X-rays on the cytology and growth of roots of *Vicia faba*, Hereditas, 42, 487-507.

Ribeiro, L. R., E. M. Cerqueira, D. Salvadori, H. Barbosa, y Whorton, E. (1990). Monitoring of individuals occupationally exposed aromatic amines. Mutat Environ., 387-396.

Roldan, E. (1990). Chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, cell-cycle kinetics and satellite associations in human lymphocytes cultures exposed to vanadium pentoxide. Mutat Res., 245, 61-65.

Rosin, M.P. y Gilbert, A.M. (1990). Modulation of genotoxic effects in humans. Mutat Environ., part E. 351-359.

Rosin, M. P., y Anwar, W. (1992). Chromosomal damage in urothelial cells from Egyptians with chronic *Schistosoma haematobium* infections. Int. J. Cancer, 50, 539-543.

Rossmann, T. G., D. Stone, M. Molina y W. Troll. (1980). Absence of arsenite mutagenicity in *Escherichia coli* and Chinese hamster cells. Environ Mut., 2, 371-379.

Rossmann, T. G. (1989). Inhibition of DNA ligase activity by arsenite: a posible mechanism of its comutagenesis. Mol Toxicol., 2, 1-9.

Roth, F. (1958).Über den Bronchialkrebs arsengeschildigter Winzer. Virchows Arch. Pathol., 331, 119.

Rutecki, G.J., Goldsmith, C., Schreiner, G.E. (1971).Characterization of protein in urinary casts. N Engl J Med., 284, 1049-1052.

Sánchez de la Fuente y cols.(1976). Arsenismo crónico en la zona rural de la Comarca Lagunera, 34th Reun Anu Aso Front Méx-Estadounidense Salubridad.

Sanders, W.R. (1864). Cancer of the bladder. Edinburgh M. J., 111, 273-274.

Sarto, F., S. Finotto, L.Giacomelli, d. Mazzotti, R.Tomanin and A.G. Levis (1987).The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. Mutagenesis, 2, 11-17.

Schiller, C. M., Fowler, B. A., Woods, J. S. (1977). Effects of arsenic on pyruvate dehydrogenase activation. *Environ Health Persp.*, 19, 205-207.

Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Res.*, 31, 9-15.

Schmid, W. (1976). The micronucleus test for cytogenetic analysis. In *Chemical Mutagens: Principles and Methods for their detection*, Vol. 4, A. Hollaender, ed. Plenum Press, New York, 31.

Schoolmeester, W. y White D. (1980). Arsenic poisoning. *South Med J.*, 73, 198-202.

Schulte, J. W., King, Ch. D., King, B. E., MacDonald, d. A., y Jessie, M. P. (1963). A simple technique for recognizing abnormal epithelial cells in urinary sediment. *J Urol.*, 89(4), 615-625.

Shklar, G. (1965). Patterns of keratinization in oral leukoplakia. *Arch Otolaryngol.*, 87, 400-404.

Silbergeld, E.K. (1983). Experimental studies of lead neurotoxicity: Implications for mechanisms, dose-response and reversibility, en: *Lead Versus Health: Sources and Effects of New York, U.S.A.* pp 191-216.

Silverman, D. T., Hartge, P., Morrison, A.S., y Devesa, S.S. (1992). Epidemiology of bladder cancer. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.*, 6(1), 1-30.

Simmons, J.E., DeMarini, D.M. Berman, B. (1988). Lethality and hepatotoxicity of complex waste mixtures. *Environ Res*; 46:74-85.

Smith, T. J., Crecelius, E.A., y Reading, J.C. (1977). Airborne arsenic exposure and excretion of methylated arsenic compounds. *Env. Health. Perspect.*, 19, 89.

Smith, A.H., Hopenhayn-Rich C. Warner, M. Biggs, M. Moore, L. Smith, M. (1993). Rationale for selecting exfoliated bladder cell micronuclei as potential biomarkers for arsenic genotoxicity. *J Toxicol Env Health.*, 40, 223-234.

Sorsa, M., Ojajarvi, A. y Salomaa, S. (1990). Cytogenetic surveillance of workers exposed to genotoxic chemicals: preliminary experiences from a prospective cancer study in cytogenetic cohort. *Teratog. Carcinog. Mutag.*, 10, 215-221.

Sorsa, M., Wilbourn y Vainio, H. (1992). Mechanisms of Carcinogenesis in Risk Identifications. Human cytogenetic damage as a predictor of cancer risk. Ed. H Vainio, P.N. Magee, D.B. Mc Gregory AJ McMichael Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp. 543-554.

Stevens, K.R. and Mylecraine, L. (1994). Issues in Chronic Toxicology, en: Principles and Methods in Toxicology, 3ra. edición, A. Wallace Hayes, Raven Press, Ltd, New York, pp 688.

Stich, H.F. y Stich, W. (1982). Chromosome damaging activity of salive of betel nut and tabacco chewers. *Cancer Lett.*, 15, 193-202.

Stich, H., J. Curtis y B: Parida. (1982a). Applications of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: tobacco chewers. *Int J Cancer*, 30, 553-559.

Stich, H.F., Stich, W., y Panda, B.B. (1982b). Elevated frequency of micronucleated cells in the buccal mucosa of individuals at high risk for oral cancer: Betel quid chewers. *Cancer Lett.*, 17, 125-134.

Stich, H., R. San y M. Rosin. (1983). Adaptation of the DNA repair and micronucleus test to human cell suspensions and exfoliated cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 407, 93-105.

Stich, H., y M. Rosin (1983a). Quantitating the synergistic effect of smoking and alcohol consumption with the micronucleus test on human buccal mucosa cells, *Int J Cancer*, 31, 305-308.

Stich, H.F., W. Stich, M.P. Rosin and M.O. Vallejera (1984). Use of the micronucleus test to monitor the effect of vitamin A, beta-carotene and canthaxanthin on the buccal mucosa of betel nut/tobacco chewers. *Int J Cancer*, 34, 745-750.

Stich, H. F., Stich, W. Rosin, M. P. (1985). The micronucleus test on exfoliated human cells. In Muhammed A, von Borstel RC (eds): "Basic and Applied Mutagenesis", New York: Plenum Press, pp. 337-342.

Sullivan J.B. y Krieger, G.R., (1992). Introduction to hazardous materials toxicology en: Hazardous materials toxicology Sullivan y Krieger Eds., Williams and Wilkins, Baltimore pp 2-8.

Tadlock, C. y Aposhian, H. (1980). Protection of mice against the lethal effects of sodium arsenite by 2,3- dimercapto-1- propanesulfonic aci and dimercaptosuccinic acid. *Biochem Biophys Res Commun.* 94, 501-507.

Takahashi, M. (1985). Atlas color: Citología del cáncer. Ed. Médica Panamericana, S.A. Buenos Aires.

Tates, A.D., I. Neuteboom, M. Hofker y L. den Engelse. (1980). A micronucleus technique for detecting clastogenic effects of mutagens/carcinogens (DEN, DMN) in hepatocytes in rat liver in vivo. *Mutat Res.*, 74, 11-22.

Thoday, J. M. (1951). The effect of ionizing radiations on the broad bean root, X. Chromosome breakage and the lethality of ionizing radiations to the root meristem, *Br J Radiol.*, 24, 572-576, 622-628.

Tolbert, P., C. Shy y J. Allen (1991). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: field test in snuff users, *Am J Epidemiol.*, 134, 840-850.

Tolbert, P.E., Shy, C.M. y Allen, J.W. (1992). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutation Res.*, 271, 69-77.

Tomatis, L. (1990) *Cancer: Causes Occurrence and Control* (IARC Sci Pub N° 100) International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

Trelles, R. A., A. Larghi y J. P. Paez (1970). El problema sanitario de las aguas destinadas a la bebida humana con contenidos elevados de arsénico, vanadio y fluor, Instituto de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires.

Tseng, W.P., Chu, H.M., How, S.W., Fong, J.M., Lin, C.S. y Yeh, S. (1968). Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan, *J. Natl. Cancer Inst. (U.S.)* 40, 453-463.

Tsuda, T., Nagira, T., Yamamoto, M., y Kume, Y. (1990). An epidemiological study on cancer in certified arsenic poisoning patients in Toroku. *Ind. Health.*, 28:(2), 53-62.

Turchi, G., S. Bonatti, V. Nuti-Ronchi y G. Cionini. (1980). Cytogenetic activity of alicyclic and aromatic epoxides, 10th annual meeting of EEMS, Athens, p. 178.

Van Etten, R. L., Waymack, P. P. y Rehkop, D. M. (1974). Transition metal ion inhibition of enzyme-catalyzed phosphate ester displacement reactions. *J Am Chem Soc.*, 96, 67-82.

Vahter, M. y Norin, H. (1980). Metabolism of ⁷⁴As-labelled trivalent and pentavalent inorganic arsenic in mice. *Environ. Res.*, 21, 446-457.

Vahter, M. (1981). Biotransformation of trivalent and pentavalent inorganic arsenic in mice and rats. *Environ. Res.*, 25, 286-293.

Vahter, M. y Marafante, E. (1987). Effects of low dietary intake of methionine, choline or proteins on the biotransformation of arsenite in the rabbit. *Tox Letters*, 37, 41-46.

Vega, L., Gonsbatt, M.E. y Ostrosky-Wegman. (1995). Aneugenic effect of sodium arsenite on human lymphocytes in vitro: an individual susceptibility effect detected. *Mutat. Res.*, 334, 365-373.

Vine, M.F. (1990). Micronuclei in: *Biological Markers in Epidemiology*, eds. B.Hulka, T. Wilcolsky, y J. Griffith, pp. 125-146. New York. Oxford University Press.

Vladimir, B. (1977). Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of arsenic. *Env Health Persp.*, 19, 179-182.

Wakata, A., y M. S. Sasaki. (1987). Measurement of micronuclei by cytokinesis-block method in cultured Chinese hamster cells. Comparison with types and rates of chromosome aberrations. *Mutat Res.*, 190, 51-57.

Walshe, W.H. (1843). *Diagnosis of diseases of the lung*. London

Wan, B., Christian, R. T., L., Soukup, S.W. (1982). Studies of citogenetic effects of sodium arsenicals on mammalian cells in vitro. *Environ. Mutag.*, 4, 493-498.

Wendt, E. (1959). Ledendbeobachtungen an bestrahlten interphaskernen. *Zschi. Zellforsch.*, 49, 677.

WHO (1981). *Environmental Health Criteria: Arsenic*, Vol. 18, Geneve.

WHO (1985). *Guidelines for the study of genetics effects in human populations*, *Environ. Health Criteria* 46, Ginebra.

WHO (1992). *Revision of the WHO guidelimes for drinking water quality. Report of the final task group meeting*, Ginebra.

Wyllie, A. (1981). Cell death: A new classification separating apoptosis from necrosis, in : I Bowen and R. Lockshin (Eds.), *Cell Death in Biology and Pathology*, Chapman and Hall, London, pp. 1-34.

Wynder, E. L., I. J. Bross, y R. M. Feldman. (1957). A study of the etiological factors in cancer of the mouth. *Cancer*, 10, 1300-1323.

Yamamoto, K.I. y Y. Kikuchi. (1980). A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons. *Mutat Res.*, 71, 127-131.

Yamanaka, K., Hasegawa, A., Sawamura, R., y Okada, S. (1989). Dimethylated arsenics induce DNA strand breaks in lung via the production of active oxygen in mice, *Biophys. Res. Comm.* 165, 43-50.

Tabla 7. RESULTADOS DE ANALISIS CITO-GENOTOXICO. TESTIGOS.

CODIGO	E	S	A. DE RES.	LESIONES DE PIEL	MN	MN	CAR	CLIS	CC	BEGG	PIC	CELULAS ANALIZADAS
96887	38	M	38	NO	0.80	10.10	12.20	24.00	0.40	0.40	0.40	2375
62111	39	M	39	NO	0.90	7.80	31.40	14.80	0.00	0.90	0.00	1147
34833	39	M		NO	1.00	1.50	4.90	1.50	0.50	0.50	0.00	2018
13428	45	M	45	NO	0.73	11.00	39.60	8.80	6.60	0.00	0.00	1364
17918	47	M	47	NO	1.50	35.20	13.90	49.90	3.70	0.70	0.00	1362
29881	52	M	52	NO	0.33	7.20	39.70	18.70	0.30	0.30	0.00	3047
97978	66	M	47	NO	0.00	5.80	55.10	43.80	0.30	0.30	0.00	3449
60609	64	M	64	NO	0.00	2.90	51.00	52.00	0.00	0.00	0.00	1020
00020		M			0.00	0.30	9.00	15.30	0.30	0.00	0.00	3000
53342	22	F	22	NO	0.00	0.60	0.30	10.90	0.00	0.30	0.00	3037
83091	24	F	24	NO	0.70	2.30	4.90	23.80	0.00	0.00	0.00	3026
93758	26	F	26	NO	0.00	1.30	29.40	6.60	3.30	0.00	0.00	3025
17676	28	F	28	NO	0.33	3.30	6.00	4.30	0.00	0.30	0.00	3003
55784	32	F	32	NO	0.00	1.30	18.40	1.30	0.30	0.30	0.00	3000
78258	33	F	10	NO	0.00	1.70	2.00	26.60	0.00	0.00	0.00	3002
87894	34	F	34	NO	0.00	1.30	5.90	25.80	0.30	0.00	0.00	3027
63700	34	F	34	NO	0.30	0.00	0.70	14.30	0.00	2.30	0.00	3014
33851	36	F	36	NO	0.90	1.60	7.80	26.30	0.60	0.60	0.30	3194
37231	35	F	20	NO	0.00	1.00	1.60	13.50	0.00	0.60	0.00	3048
99547	40	F	40	NO	0.70	5.10	27.80	16.60	0.70	1.10	0.00	2764
01412	44	F	43	NO	0.00	0.00	0.90	23.70	0.00	0.00	0.00	1140
62880	44	F	44	NO	0.90	1.80	5.60	2.80	0.00	0.00	0.00	1077
89964	45	F	23	NO	0.30	0.00	15.40	16.00	0.00	0.00	0.00	3058
44105	62	F	62	NO	1.20	1.60	23.40	7.10	2.80	0.40	0.00	2521
00019	56	F		NO	0.00	0.30	0.30	40.00	0.00	0.00	0.00	3072
00018	40	F		NO	1.00	1.60	4.60	5.60	0.00	0.00	0.00	3013
SG	46	F		NO	0.00	0.00	12.00	6.00	0.00	0.00	0.00	1000
LC	45	F		NO	1.80	1.00	25.80	23.10	1.00	0.00	0.00	1083
N=28												
MEDIA	41		36		0.48	3.84	16.06	18.68	0.75	0.32	0.03	2424
EE	2		3		0.10	1.27	2.94	2.61	0.28	0.09	0.02	849
TOTAL												67886

E: Edad(años), S: Sexo, A. DE RES: AÑOS DE RESIDENCIA

MN: Micronúcleos, BN: Binucleadas, CAR: Cariorréxis, CLIS: Carilisis, CC: Cromatina condensada, BEGG: Broken-egg, PIC: Pícnosis.

EE: Error estándar

Tabla 8. RESULTADOS DE ANALISIS CITO-GENOTOXICO. EXPUESTOS.

CODIGO	E	S	A. DE LESIONES RES. DE PIEL		MN	BN	CAR	CLIS	CC	BEGG	PIC	CELULAS ANALIZADAS
83463	28	M	10	1,4	19.20	11.80	7.00	14.80	9.60	0.70	0.00	1350
67079	32	M	28	NO	0.00	1.70	2.30	8.70	0.00	0.00	0.00	1715
05999	38	M	38	2,3	1.70	0.80	4.30	51.60	0.00	0.00	0.00	1163
42866	38	M	16	NO	1.10	10.10	41.60	23.00	0.00	0.60	0.00	1778
64620	41	M	41	1,2,3,4,5	1.30	1.30	21.00	16.60	4.70	1.30	1.00	3002
15345	43	M	43	NO	3.80	3.80	21.50	21.50	0.00	0.00	0.50	1816
58212	46	M	46	NO	2.20	11.90	38.80	36.50	3.00	1.50	0.00	1341
54463	24	F	3	NO	0.00	0.00	0.00	0.70	0.00	0.00	0.00	3002
81619	27	F	27	NO	0.00	0.00	0.00	27.90	0.00	0.40	4.00	2754
13858	28	F	28	NO	0.30	0.30	0.70	10.30	0.00	0.00	0.70	3007
65978	31	F	15	NO	0.00	0.70	0.70	9.50	0.00	0.30	1.00	3018
05437	33	F	33	4	0.00	1.30	1.70	17.80	0.00	0.00	0.40	2303
63116	33	F	9	NO	0.00	0.00	0.00	15.00	0.00	0.30	20.70	3000
82995	37	F	20	NO	3.00	3.70	7.70	28.90	0.00	0.00	4.00	3005
06468	38	F	20	NO	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.30	3000
00015	42	F	42	4	0.00	2.90	37.40	44.00	0.00	0.00	0.30	3099
16777	42	F	42	2,3,4	10.30	0.00	0.00	12.60	1.00	7.00	0.30	3018
84318	44	F	44	4	0.00	0.00	0.70	25.00	0.00	0.00	0.00	3001
97017	47	F	47	NO	2.80	1.90	10.30	17.70	0.00	1.00	0.00	1070
47361	47	F	30	NO	1.00	2.30	3.50	10.30	0.00	1.00	7.80	3098
72640	42	F			0.00	4.00	11.60	55.00	0.00	0.30	1.00	3009
N=21												
MEDIA	37		29		2.22	2.78	10.04	21.55	0.87	0.68	2.00	2455
EE	1		3		0.97	0.81	2.94	3.17	0.49	0.32	1.00	738
TOTAL												51549

E:Edad(años), S:Sexo, A. DE. RES: AÑOS DE RESIDENCIA

CLASIFICACION DE LAS LESIONES DE PIEL: 1:hiperhidrosis, 2:hipocromias, 3:hipercromias, 4:hiperqueratosis puntata palmoplantar, 5:hiperqueratosis papilar, 6:Cuernos cutáneos

MN: Micronucleos, BN: Binucleados, CAR: Cariorrexis, CLIS: Carilias, CC: Cromatina condensada, BEGG: Broken-egg,

PIC: Pícnosis

EE: Error estándar

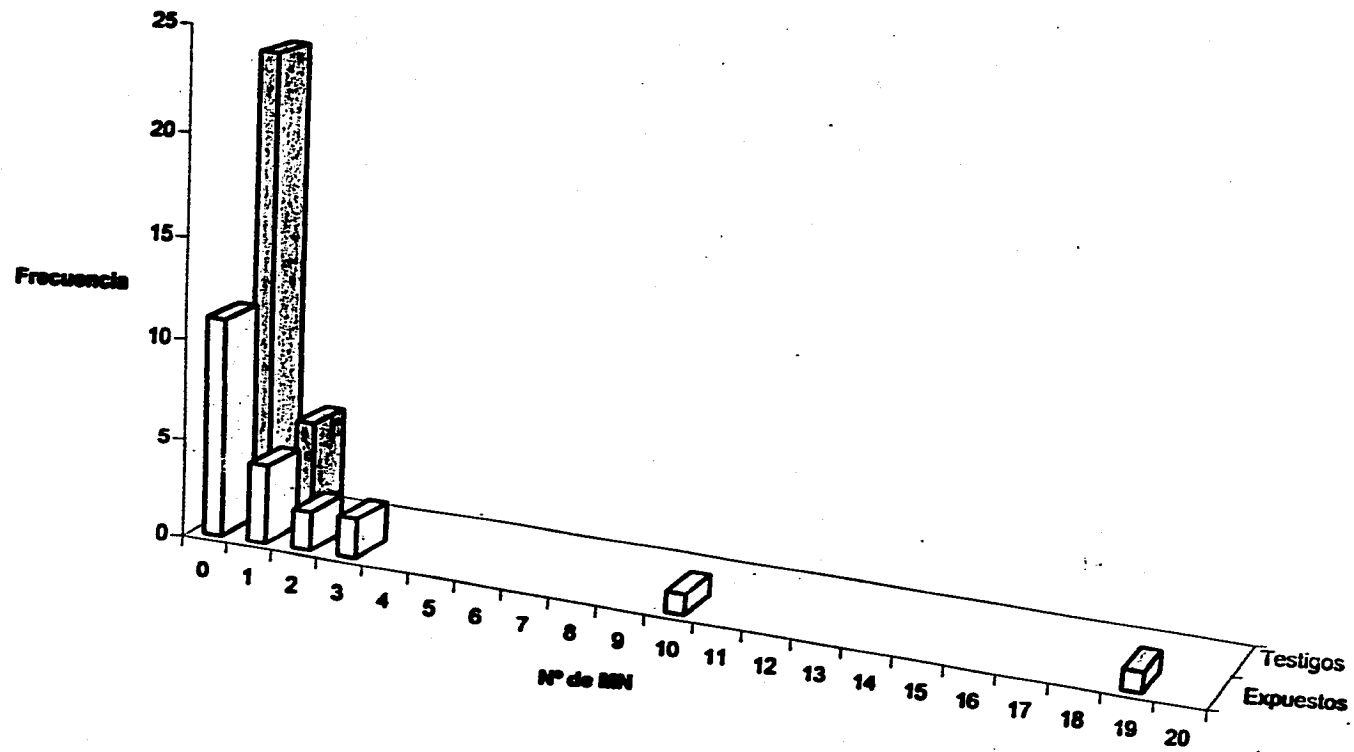


Figura 6. Distribución de la frecuencia de MN

Tabla 9. Valores de p obtenidos al analizar mediante la prueba de "t" de Student, las frecuencias de:

	MN	BN	CAR	CLIS	CC	BEGG	PIC
2 colas	0.04	0.53	0.18	0.50	0.83	0.03	0.13
1 cola	0.02	0.26	0.09	0.25	0.41	0.01	0.06

MN: Micronucleos, BN:Binucleados, CAR:Carierresis, CLIS:Carilisis, CC:Cromatina condensada, BEGG:Broken-egg, PIC:Picnosis.

Tabla 10. INTERPRETACION CITOLOGICA

TESTIGOS

60609 (Masculino, edad: 64 años, residencia: 64 años)

Flora bacteriana mixta ++

Leucocitos polimorfonucleares ++

Cristales ++

Epitelio de transición +, epitelio plano ++

Escamas ++, cariorexia +, halos claros perinucleares ++, binucleadas y multinucleadas ESCASAS

Discariosis ligera

Citología NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares ligeras)

13428 (Masculino, edad: 45 años, residencia: 45 años)

Mala conservación celular

Flora bacteriana cocoide +++

Epitelio de transición ESCASO, epitelio plano ++

Histiocitos +++, leucocitos polimorfonucleares +, cariorexia +, binucleación (escasa), escamas +.

Discariosis de moderada a severa, plasticidad citoplasmica moderada.

Citología NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares moderadas)

89964 (Femenino, fumadora, edad: 45 años, residencia: 23 años)

Mala conservación celular

Flora bacteriana mixta +++

Epitelio plano +++, de transición +

Leucocitos polimorfonucleares +++

Espermatozoides +++, hongos +, halos claros perinucleares +, cariorexia +, escamas ++

Discariosis ligera

Citología NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares ligeras)

83091 (Femenino, edad: 24 años, residencia: 24 años)

Epitelio plano +++, transicional +

Flora bacteriana mixta +++

Leucocitos polimorfonucleares ++ (destruidos), nucleos sueltos +

Halos claros perinucleares +, cariorexia +, binucleadas escasas, escamas +.

Citología NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares ligeras).

29881 (Masculino, fumador, edad: 52 años, residencia: 52 años)

Epitelio plano +, epitelio transicional +++

Flora bacteriana cocoide ++

Escamas +++(células anucleadas), binucleadas escasas, multinucleadas +, cariorexia +

Anfifilia ++, halos claros perinucleares: abundantes y muy amplios, hongos (esporas e hifas)

Cels Aberrantes(grotescas) con discariosis, gránulos de queratohialina +++.

DESCRIPCION: Preparación con buena conservación celular

Epitelio transicional con alteraciones inflamatorias severas, binucleación y multinucleación, se observaron tres grupos celulares de epitelio transicional profundo con discariosis de moderada a severa.

La imagen general del frotis es de células con plasticidad anormal de la forma del citoplasma, microvacuolización del mismo y ausencia del núcleo.

Compatible con EFECTO CITOTOXICO.

Citología en orina:NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares moderadas)

44105 (Femenino, edad: 62 años, residencia: 62 años)

Mala conservación celular

Epitelio plano ++, epitelio transicional +++

Flora bacteriana mixta +++

leucocitos polimorfonucleares +++, Hongos ++, binucleación y multinucleación escasa, escamas +++.
Discariosis leve en algunas células de transición.
Citología NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares ligeras)

17676 (Femenino, edad: 28 años, residencia: 28 años)
Epitelio plano +++, epitelio transicional +
Flora bacteriana bacilar ++
Leucocitos polimorfonucleares +, histiocitos +++
Halos claros perinucleares +, hongos ++, escamas +, gránulos de queratohialina ++.
Discariosis ligera.
Citología NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares ligeras).

EXPUESTOS

97017 (Femenino, edad: 47 años, residencia: 47 años)
Mala conservación celular
Epitelio plano +++, epitelio transicional +
Flora bacteriana mixta +++
Halos claros perinucleares ++, anofilia +, escamas +, binucleación y picnosis escasas
Discariosis ligera
Citología NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares ligeras).

15345 (Masculino, edad: 43 años, residencia: 43 años)
Epitelio plano ++, epitelio transicional ++
Flora bacteriana cocoide ++
Leucocitos polimorfonucleares +, fina vacuolización citoplasmica +, halos claros perinucleares +
Binucleación y multinucleación escasas, cariorrexis +, escamas +
Discariosis ligera
Citología NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares ligeras)

64620 (Masculino, edad: 41 años, residencia: 41 años, con lesiones de piel)
Epitelio plano ++, epitelio transicional +
Flora bacteriana cocoide ++
Leucocitos polimorfonucleares ++, hongos ++, fina vacuolización citoplasmica +,
halos claros perinucleares +, gránulos de queratohialina +.
Binucleación multinucleación y picnosis escasas, cariorrexis +, escamas +
Escasas células con plasticidad anormal del citoplasma, discariosis ligera.
Citología NEGATIVA A MALIGNIDAD (atipias celulares moderadas).

83463 (Masculino, edad: 28 años, residencia: 10 años, con lesiones de piel)
Epitelio plano +, epitelio transicional +++
Flora bacteriana cocoide ++
Leucocitos polimorfonucleares +, linfocitos mal conservados +, histiocitos ++
Binucleación y multinucleación ++, cariorrexis +, escamas +, una metafase
Discariosis acentuada, nucleolos evidentes, polimorfismo celular acentuado.
Citología: NEGATIVA A MALIGNIDAD (Compatible con: Displasia severa de células transicionales)
Para confirmar la interpretación citológica: Es necesario realizar citología urinaria (en serie de tres muestras frescas) y Biopsia para análisis histológico.

Tabla II. MARCADORES DE EXPOSICION Y EFECTO

	TESTIGOS	EXPUESTOS
EDAD (años)**	41 ± 11	37 ± 7
RESIDENCIA (años)**	36 ± 14	29 ± 4
As TOTAL EN SANGRE*	17.6 ± 16.9	34.0 ± 27.3
As TOTAL EN ORINA*	36.7 ± 36.7	758.4 ± 364.0
As TOTAL EN MUESTRAS DE AGUA*	37.2 ± 18.0	420.0 ± 16.0
CELULAS MICRONUCLEADAS**	0.48 ± 0.52	2.22 ± 4.44

*mg/L ± DE **PROMEDIO ± DE

DE:Desviación estándar