



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**CITOTOXICIDAD PRODUCIDA POR LA  
ACROLEINA (CONTAMINANTE  
AMBIENTAL) EN ESTOMAGO Y  
DUODENO DE RATA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:  
MATURANO JIMÉNEZ VICTOR**

**ASESORES:  
Q.B.P. JULIETA HERRERA MARTÍNEZ  
I.B.Q. VICTOR CORVERA PILLADO**



**LO HUMANO  
EJE  
DE NUESTRA REFLEXIÓN**

**MÉXICO, D.F.**

**2005**

m 342817



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

**TABLA DE CONTENIDO**

	<b>Pag.</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
 <b>II. FUNDAMENTACION TEÓRICA</b>	
<b>A. Contaminación Ambiental .....</b>	<b>3</b>
<b>B. Acroleína .....</b>	<b>6</b>
<b>1. Definición .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Características fisicoquímicas .....</b>	<b>7</b>
<b>3. Fuentes de obtención .....</b>	<b>8</b>
<b>4. Usos industriales .....</b>	<b>8</b>
<b>5. Contaminación con acroleína .....</b>	<b>9</b>
<b>6. Absorción y metabolismo .....</b>	<b>10</b>
<b>7. Detección de la acroleína .....</b>	<b>12</b>
<b>C. Antecedentes toxicológicos experimentales de la acroleína</b>	
<b>1. Efecto de la acroleína en ratas experimentalmente         expuestas .....</b>	<b>12</b>

	<b>Pag.</b>
2. Efecto de la acroleína en humanos .....	14
<b>D. Anatomía macroscópica y microscópica de estómago y duodeno de rata</b>	
1. Estómago .....	15
2. Intestino delgado (duodeno) .....	16
<b>III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>19</b>
<b>IV. OBJETIVOS .....</b>	<b>21</b>
<b>V. HIPÓTESIS .....</b>	<b>22</b>
<b>VI. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
<b>VII. RESULTADOS .....</b>	<b>40</b>
<b>VIII. DISCUSIÓN .....</b>	<b>58</b>
<b>IX. CONCLUSIONES .....</b>	<b>62</b>
<b>X. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>63</b>

## I. INTRODUCCIÓN

La Acroleína es un líquido volátil, muy reactivo. Su principal uso es como un intermediario en la síntesis de numerosos químicos, en particular del ácido acrílico y sus ésteres. Es considerado un contaminante ambiental y ocupacional ya que es un producto de la combustión incompleta y degradación térmica de sustancias orgánicas, como combustibles, tabaco, grasas, polímeros sintéticos naturales y productos alimenticios; por lo cual, las poblaciones están expuestas a presentar lesiones orgánicas que provocan serios deterioros en la salud.

En este trabajo se realizó el estudio histológico de estómago y duodeno de ratas expuestas experimentalmente a la acroleína en concentraciones representativas del nivel atmosférico e industrial detectados. Esto con la finalidad de determinar el daño orgánico (efecto citotóxico) que causa, así como determinar la dosis-respuesta.

Se seleccionaron 2 dosis de acroleína a administrar a las ratas de experimentación: 11.2 y 25 mg/Kg de p.c. (peso corporal). La vía de administración fue intragástrica, las dosis seleccionadas de acroleína se introdujeron hasta el estómago mediante una cánula adaptada a una jeringa en una dosis única, los tiempos de exposición fueron 24, 48 y 96 h. Al término, se llevó a cabo el sacrificio de los animales experimentales, se obtuvieron los órganos (estómago y duodeno) mediante la técnica de disección anatómica y se sometieron a todos los procesos de la técnica histológica (fijación, lavado, deshidratación, transparentación, inclusión en parafina, obtención de cortes por parafina, desparafinación y tinción); posteriormente, se realizó el análisis microscópico para determinar las alteraciones morfológicas producidas por las diferentes dosis de acroleína y tiempos de exposición.

En los resultados obtenidos se observaron daños en las capas mucosa y submucosa del estómago y duodeno, la muscular y serosa presentaron histología normal.

Las lesiones observadas fueron: necrosis, destrucción glandular, esfacelación, inflamación crónica, dilatación y congestión vasculares y hemorragia; siendo que el grado de la mayoría de éstas fue proporcional a la dosis de acroleína y al tiempo de exposición.

## II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

### A. *Contaminación ambiental*

Se entiende por contaminación ambiental la adición de cualquier sustancia al medio ambiente en suficientes cantidades que causen efecto sobre los seres humanos, los animales, la vegetación o los materiales; y que se presenten en cantidades que sobrepasan a las que se encuentran en la naturaleza. Tales sustancias pueden presentarse como partículas sólidas, líquidas, gases o mezclas de estas formas.

Se mencionan 2 tipos de contaminación:

Contaminación de tipo reductor: Se caracteriza por la presencia de dióxido de azufre, el humo de la combustión incompleta del carbón, condiciones de niebla y bajas temperaturas.

Contaminación de tipo oxidante o contaminación fotoquímica: Constituida por hidrocarburos, óxidos de nitrógeno y oxidantes fotoquímicos, provenientes de la emisión de los gases de combustión de los automóviles, ésta ocurre especialmente en áreas donde el sol intenso causa reacciones fotoquímicas en las masas de aire contaminadas y atrapadas por una capa de inversión meteorológica (Guerra. 1995; Quadri. 1994).

Se ha mencionado que puede haber contaminación del aire, agua y suelo; por supuesto, cualquiera de ellas es nociva para el hombre; sin embargo, la del aire es la más dañina, pues los contaminantes entran al organismo por las vías respiratorias, algunos de estos compuestos químicos pueden absorberse y causar daños en la salud del individuo (Bermúdez y col., 1994).

Cuando el nivel de contaminación es muy alto y se mantiene así por varios días (3 ó 4), puede causar incidentes serios de morbilidad y mortalidad en la población como son los casos de Bélgica en 1930. Pensylvania (Estados

Unidos) en 1948 y Londres en 1952. La mayoría de las personas que enfermaron o murieron, cuando el nivel de contaminación fue mas alto que el normal, eran ancianos; algunos de ellos tenían enfermedades cardiacas, respiratorias o ambas. Sin embargo se ha observado que existe una correlación entre el aire contaminado y las admisiones en los hospitales por trastornos alérgicos, enfermedades oculares inflamatorias, infecciones de vías respiratorias superiores y bronquitis (Goodman y col., 1994).

La contaminación del aire se debe a la presencia en la atmósfera exterior de uno o más contaminantes o sus combinaciones (polvo, vapores, niebla, líquidos, humo, otras materias particuladas, gas y sustancias olorosas), en cantidades tales y con tal duración que puedan afectar la vida humana, de animales y de plantas.

La contaminación del aire forma parte de la vida moderna, es la consecuencia de la manera como se construyen nuestras ciudades, del transporte y generación de energía para calentar e iluminar los lugares en donde vivimos, nos divertimos o trabajamos. La causa principal de este tipo de contaminación es la combustión, y ésto es esencial para el hombre. Cuando ocurre la combustión perfecta o teórica, el hidrógeno y el carbón del combustible se combinan con el oxígeno del aire para producir calor, luz, dióxido de azufre y vapor de agua. Sin embargo las impurezas del combustible, y una incorrecta relación entre el combustible y el aire, a temperaturas de combustión demasiado altas o demasiado bajas, son causa de la formación de productos secundarios, tales como monóxido de carbono, óxido de azufre, óxido de nitrógeno, cenizas finas e hidrocarburos no quemados, todos ellos son contaminantes atmosféricos.

Cinco contaminantes son responsables de casi el 98 % de la contaminación atmosférica: monóxido de carbono ( 52%), óxido de azufre (18%), hidrocarburos (12%), sustancias particuladas (10%), y óxidos de nitrógeno (6%) (Dreissbach, 1984).



Uno de los principales problemas de la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), es la emisión de contaminantes, que asciende a poco menos de cinco millones de toneladas anuales; 570 mil toneladas provienen de la industria, cuatro millones de toneladas son causadas por fuentes móviles y el resto corresponden a fenómenos naturales.

Se estima que en la ZMVM circulan casi tres millones de vehículos automotores, mismos que contribuyen en un 80 % al total de la contaminación.

En relación con las fuentes fijas, se estima en más de 30 mil el número de instalaciones industriales y de servicios.

Las emisiones principales provienen de las industrias química, fundición de hierro y acero, textil, de minerales no metálicos, hule, papelera, alimenticia, vidriera, de plásticos, metal-mecánica, de asfalto, de grasas, aceites y cementera. Destacan las refinerías y las termoeléctricas, que aportan el 37% del total de contaminantes provenientes de fuentes fijas (Programa Nacional para la Protección del Medio Ambiente 1990 - 1994).

La contaminación del aire en interiores puede ser causada por el polen, agentes microbianos como bacterias, virus, hongos; productos químicos como formaldehído, acroleína, humo de tabaco, pesticidas, asbestos, compuestos orgánicos volátiles, plomo en pintura, gas para lavado en seco y fuentes externas que incluyen a los vehículos de motor (Rice, 1990; Sambke, 1992; Freshening, 1993).

Se menciona que los hidrocarburos forman parte del grupo de contaminantes que se cuantifican en el Valle de México, la oxidación de éstos, provocada por la luz solar o por combustión incompleta (escape de automóviles, incendios de bosques etc.), conduce a la formación de aldehídos; liberándose resinas que contienen formaldehído y acroleína.

La concentración de los aldehídos es de 0.0005 a 0.002 ppm en una atmósfera limpia, de 0.004 a 0.05 ppm en el aire ambiente urbano y hasta de 0.8 ppm en interiores donde se encuentran sustancias que despiden formaldehído y acroleína.

Aproximadamente el 5 % de los aldehídos totales del aire contaminado es acroleína ( $\text{H}_2\text{C}=\text{CHCHO}$ ), la cual contribuye al olor del “smog” fotoquímico y a la irritación ocular que causa.

## ***B. Acroleína***

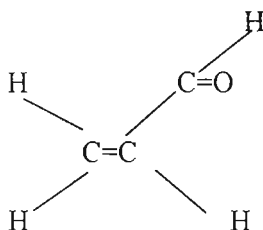
### **1. Definición**

La acroleína es un líquido volátil, sumamente inflamable, con un olor pungente, asfixiante y desagradable; es altamente soluble en agua y solventes orgánicos, tales como etanol y dietil éter; en ausencia de un inhibidor, la acroleína esta sujeta a la polimerización altamente exotermica, catalizada por la luz y aire. Se trata de un compuesto muy reactivo.

## 2. Características fisicoquímicas de la acroleína

Fórmula química. C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O

Estructura química.



Peso molecular. 56.06

Nombre común. Acroleína

Sinónimos comunes. Acraldehído, acrilaldehído, aldehído acrílico y propenal.

Estado físico. Líquido.

Punto de fusión. -87 °C

Punto de ebullición. (a 101.3 Kpa) 52.7 °C

Solubilidad en agua. (a 20 °C) 206 g/l

Densidad relativa. (a 20 °C) 0.8427

Presión de vapor. (a 20 °C) 220 mmHg

Límites flamables en el aire. 2.8-31 %-vol.

Factor de conversiones. a 25 °C y 101.3 Kpa (760 mmHg)

1 ppm de acroleína = 2.29 mg/m<sup>3</sup>

1 mg de acroleína por m<sup>3</sup> aire = 0.44 ppm.

(International Union of Pure and Applied Chemistry; International Agency for Research on Cancer IARC, 1985; Morrison, 1986).

### **3. Fuentes de obtención de la acroleína**

Fuentes naturales:

Se encuentra en aceites esenciales extraídos de la madera de los árboles de roble, de tomates y de otros alimentos.

Otras fuentes:

De la combustión incompleta y degradación térmica de sustancias, orgánicas tales como, tabaco, grasas, polímeros sintéticos y naturales, también productos alimenticios; frecuentemente resulta de la emisión de aldehídos. Las principales fuentes de aldehídos presentes en el aire provienen de la combustión incompleta de residuos de madera quemada, carbón quemado, aceites o gas natural, de plantas de energía, la quema de combustible de automóviles, la quema de desechos y vegetación. La acroleína constituye del 3-10 % del total de aldehídos provenientes del escape de automóviles y del 1-13 % del total de aldehídos del humo de madera, y cerca del 70 % de aldehídos del humo del cigarro, el 5 % de acroleína es formada por oxidación fotoquímica de hidrocarburos en la atmósfera.

Anteriormente la acroleína se obtenía por la condensación de vapor de acetaldehído y de formaldehído (Hess y col., 1990).

### **4. Usos industriales**

El principal uso de la acroleína es como un intermediario en la síntesis de varias sustancias químicas, en particular del ácido acrílico y sus ésteres, y DL-metionina. En los Estados Unidos de Norteamérica, en 1983, del 91 a 93 % de la cantidad total de acroleína producida fue convertida a ácido acrílico y sus ésteres y 5 % a metionina (Beauchamp y col., 1985).

Otros derivados de la acroleína son el 2 hidroxidipaldehído, 1,2,6 hexanotriol, lisina, glutaraldehído, tetrahydro-benzaldehído, pentanodiol, 1,4, butanodiol, tetrahydrofurano, piridina, 3-picolina, alcohol alílico, glicerol, quinoleína, homopolímeros y copolímeros.

Es utilizada como biocida en concentraciones de 6-10 mg/l en agua como alguicida, moluscocida y herbicida en los procesos de tratamiento de aguas recirculantes para irrigación. Como biocida de microorganismos, en gasolinas y aceites para automóviles y en la industria papelera, como fijador de tejidos y en refrigerantes, en la producción de perfumes y termoplásticos (Hess y col., 1990; IARC, 1985; Nordone y col., 1996; Nordone y col., 1997).

## **5. Contaminación con acroleína**

La acroleína constituye más del 7% de los aldehídos del humo del cigarrillo. Los pacientes con quimioterapia de cáncer con ciclofosfamida están expuestos a la acción citotóxica de la acroleína, ya que ésta última es producto de su metabolismo.

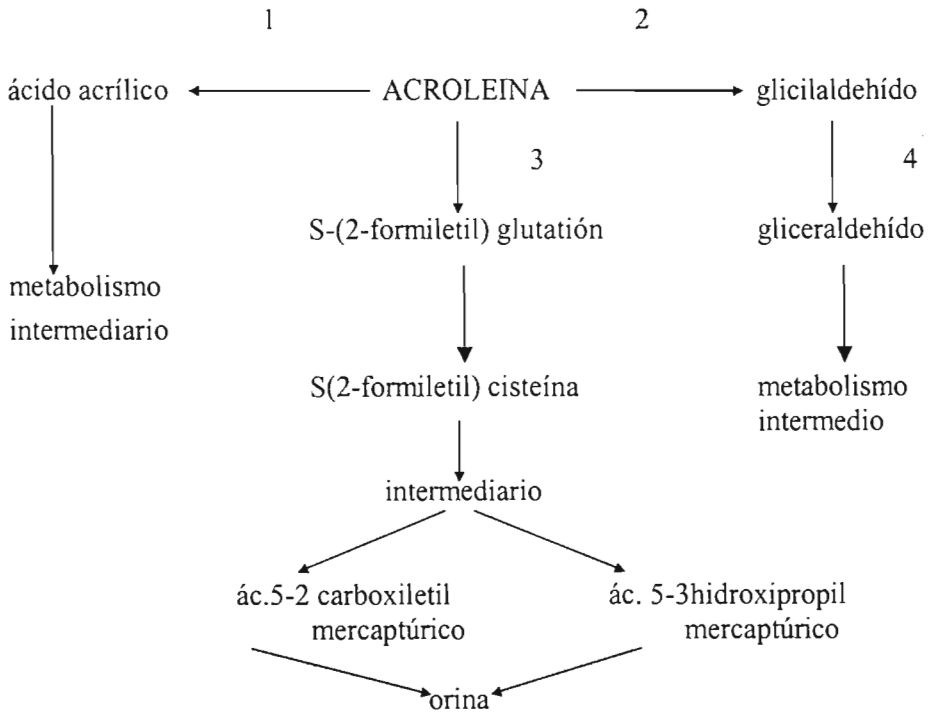
La población en general está expuesta a la acroleína. En Japón, Suiza y USA, se han descrito niveles de más de 32  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  de acroleína en el aire urbano. Tanto los fumadores como los no fumadores están expuestos a la acroleína, como producto de la pirólisis del tabaco.

Existen datos que muestran que en un cigarrillo existen de 3-228  $\mu\text{g}$  de acroleína, la cantidad depende del tipo de cigarrillo (Rickert y col., 1980; Baker y col., 1991).

## **6. Absorción, distribución y metabolismo de la acroleína**

La absorción de la acroleína se lleva a cabo en vías respiratorias inferiores y tracto gastrointestinal, es excretada por orina.

Los principales metabolitos identificados en orina de ratas son el ácido 5-carboxietil-mercaptúrico y su metil éster y el ácido 5-hidroxiopil-mercaptúrico (Draminski y col., 1993; Ghilarducci y col., 1995; Linhart y col., 1996).



1.-Citosol y microsomas hepáticos ADH + NAD.

2.-Epoxidasa, citocromo P 450NADPH, microsomas hepáticos y pulmonares.

3.-Transferasa.

4.-Epóxido hidrolasa.

## **7. Detección de la acroleína**

Por métodos colorimétricos, espectrofotométricos y fluorimetría se ha detectado que los niveles de acroleína en la Ciudad de México son los siguientes: en el aire urbano oscila entre  $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$  a  $32 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ; en industrias o en ambientes saturados de humo de cigarrillo van de  $450 \mu\text{g}/\text{m}^3$  hasta  $1000 \text{g}/\text{m}^2$ .

Las concentraciones de acroleína de  $0.07 \text{mg}/\text{m}^3$  se perciben por su olor; de  $0.13 \text{mg}/\text{m}^3$  producen irritación ocular; de  $0.3 \text{mg}/\text{m}^3$  causan irritación nasal y lagrimeo, y de  $0.7 \text{mg}/\text{m}^3$  provocan trastornos respiratorios severos (Vermeire, 1992).

Ya que la acroleína es un contaminante ambiental y ocupacional, las poblaciones están expuestas a presentar lesiones orgánicas que provocan serios deterioros en la salud, entre los antecedentes toxicológicos obtenidos en animales de laboratorio y humanos se tienen los siguientes:

### ***C. Antecedentes toxicológicos experimentales de la acroleína***

#### **1. Efecto de la acroleína en ratas experimentalmente expuestas**

El estudio histopatológico del tracto respiratorio en ratas expuestas a vapores de acroleína reveló varios tipos de alteraciones en el epitelio respiratorio; como son: pérdida de cilios, exfoliación, necrosis de moco y vacuolización. También se ha observado inflamación aguda, consistente de infiltración de leucocitos en la mucosa, hiperemia, hemorragia y edema intracelular, así como cambios degenerativos (hiperplasia) (Potts y col., 1990; Crane y col., 1986).



En pruebas de inhalación aguda, con dosis de 4.3 a 5.9 mg/m<sup>3</sup>, de acroleína durante 4 hrs; se observó quimosis a nivel de iris e irritación ocular (Potts y col., 1990).

Ratas expuestas a concentraciones de acroleína entre 1.214 y 9.51 mg/m<sup>3</sup> durante varios periodos de tiempo presentaron inhabilidad para caminar y convulsiones, después de ser expuestas 2.8 min a la concentración más alta y de 27 a 34 minutos a la concentración más baja. Estos efectos fueron seguidos de la muerte después de varios minutos (Crane y col., 1986).

En el sistema cardiovascular, concentraciones entre 10 y 50 mg/m<sup>3</sup>, administradas a ratas anestesiadas con pentobarbital sódico por inhalación e ingestión por 1 minuto, mostraron incremento de presión arterial a todas las dosis (Egle y Hudgins, 1992).

Las ratas expuestas por vía oral a la dosis de 11.2 mg de acroleína/kg de peso, presentaron disminución de sus reflejos, baja de peso, letargia, estupor y escalofríos, así como daño respiratorio (Sprince, 1989).

Cohen y cols., en 1992, demostraron que la acroleína induce citotoxicidad aguda en la mucosa de la vejiga urinaria de ratas después de 2 días de administración de la única dosis oral o intraperitoneal de 25 mg/kg peso, presentaron hiperplasia. En estómago hubo gastritis hemorrágica severa.

Las ratas intoxicadas con vapores de acroleína, en concentraciones de 0.0, 0.89, 3.21 y 9.07 mg/m<sup>3</sup>, por 6 hrs/día, 5 días a la semana durante 61 - 63 días presentaron a la necropsia: incremento del peso de varios órganos, especialmente pulmones, se observaron agregados linfoides en el parénquima pulmonar, hiperplasia y metaplasia de epitelio de bronquiolos terminales, aumento de macrófagos intraalveolares, neumonitis multifocal e intersticial y metaplasia escamosa del epitelio traqueal, necrosis epitelial con exfoliación del epitelio bronquial y bronquiolar, con exfoliación, edema, hemorragia y varios grados de bronconeumonía (Lyon y col., 1990).

En laringe y tráquea hubo metaplasia escamosa en bronquios, bronquiolos y alvéolos, se observó hiperplasia y cambios inflamatorios como hemorragia, edema, acumulación de macrófagos alveolares, así como bronconeumonía (Feron y col., 1990).

Jakab, 1993 estudió el efecto de la acroleína en ratones expuestos a la dosis de 2.5 ppm por inhalación durante 4 hrs. diarias por 4 días, encontrando trastornos respiratorios semejantes a los descritos por los autores mencionados anteriormente.

Lee y col., 1992 intoxicaron ratas con vapores de acroleína en concentraciones de 350 ppm y 1 ml/kg de peso. Encontraron edema pulmonar, bradicardia, disminución en la ventilación y del reflejo apneústico.

Parent y col., 1992 en ratas expuestas por vía oral a la acroleína en concentraciones de 0.05, 0.5 y 2.5 mg/kg diariamente y durante 2 años demostrando el potencial carcinogénico de esta sustancia.

Horvath y col., 1992 expusieron ratas a una dosis única intravenosa de acroleína de 0.5 y 1m mol/kg de peso, indican la nefrotoxicidad que tiene esta sustancia en riñón.

Roemer y col., 1993 en ratas demostraron que la acroleína causa en nariz y tráquea hiperplasia y metaplasia escamosa epitelial, así como alteraciones inflamatorias.

## **2. Efecto de la acroleína en humanos**

Un hombre expuesto ocupacionalmente a un accidente en una planta química, por vía dérmica e inhalación de vapores, después de 20 hrs de ocurrido el accidente fue hospitalizado, presentó fiebre, tos, aumento de esputo, cianosis y fallas respiratorias. Dos meses después tuvo obstrucción del bronquio derecho, y en tráquea edema con focos hemorrágicos a los 18 meses se desarrolló bronquitis crónica y efisema (Vermeire, 1992; Kumar, 1996).

☞  
Un hombre suicida, ingirió 1.5 g de acroleína disuelta en jugo de naranja, presentó gastritis crónica en estómago con erosiones y úlceras, estenosis pilórica y linfadenitis, con hemosiderina en los nódulos linfoides (Schielke, 1990).

Dos jóvenes murieron después de inhalar durante 2 hrs aproximadamente acroleína debido a fallas respiratorias. La autopsia reveló descamación celular masiva del revestimiento de los bronquios, la tráquea, bronquios y pulmones mostraron infartos múltiples (Gosselin y col., 1991).

\*

#### ***D. Anatomía macroscópica y microscópica normales de estómago y duodeno de rata***

##### **1. Estómago**

El estómago es una porción ensanchada del tubo digestivo, en forma de letra J, que se sitúa directamente inferior al diafragma, en las regiones epigástrica, umbilical e hipocondriaca izquierda del abdomen. Su porción superior es continuación del esófago, mientras que la inferior vacía su contenido en el duodeno, que es la primera parte del intestino delgado. El tamaño y posición del estómago varían constantemente en cada individuo; por ejemplo, el diafragma lo empuja hacia abajo con la inspiración y hacia arriba con cada espiración. Cuando esta vacío, su tamaño equivale al de una salchicha grande, pero se puede estirar para recibir grandes volúmenes de alimentos.

El estómago se divide en cuatro regiones: cardias, fondo, cuerpo y píloro. El cardias rodea al esfínter esofágico inferior, y la porción redondeada que se sitúa por arriba y a su izquierda es el fondo. Por debajo de este último, está la porción central grande del estómago, el cuerpo, mientras que la región inferior angosta es el píloro. El borde medial (interno) cóncavo del estómago es su curvatura menor, y su borde lateral (externo) convexo, la curvatura mayor. El píloro comunica con el duodeno (del intestino delgado) por medio del esfínter pilórico.

La pared del estómago se compone de las cuatro capas histológicas del tubo digestivo: capas mucosa, submucosa, muscular y serosa. Cuando esta vacío, su mucosa presenta grandes pliegues, o arrugas, que pueden observarse a simple vista. El examen microscópico de la mucosa revela la presencia de una capa de epitelio cilíndrico simple con numerosos orificios angostos. Estas depresiones o glándulas gástricas están revestidas por varios tipos de células secretoras: cimógenas, parietales, mucosas y enteroendocrinas. Las células cimógenas secretan el pepsinógeno, precursor de la enzima gástrica más importante. Las células parietales producen el ácido clorhídrico, que participa en la conversión del pepsinógeno a su forma activa, la pepsina, así como el factor intrínseco, que participa en la absorción de la vitamina B<sub>12</sub>, necesaria para la formación de eritrocitos. Las células mucosas, como lo indica su nombre, secretan moco. En forma conjunta, las secreciones de las células cimógenas, parietales y mucosas reciben el nombre de jugo gástrico. Las células enteroendócrinas secretan gastrina estomacal, hormona que estimula la secreción de ácido clorhídrico y pepsinógeno, causa la contracción del esfínter esofágico inferior, aumenta levemente la motilidad del tubo digestivo y relaja el esfínter pilórico.

La capa submucosa del estómago está constituida por tejido conjuntivo laxo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y nervios.

La capa muscular presenta fibras musculares lisas dispuestas en forma oblicua, circular y longitudinal.

La capa serosa está formada por tejido conjuntivo laxo, envuelta por peritoneo viscera (Leeson y col., 1987; Tortora, 1989; Di Fiore, 1989; Hebel, 1995).

## **2. Intestino delgado (duodeno)**

La mayor parte de la digestión y absorción de los alimentos tiene lugar en un conducto de gran longitud, el intestino delgado. Este se inicia en el esfínter pilórico (píloro) del estómago, sigue un trayecto tortuoso por las partes central

e inferior de la cavidad abdominal y finalmente se continúa con el intestino grueso.

El intestino delgado se divide en tres segmentos. El duodeno es su parte más corta, se origina en el esfínter pilórico del estómago y tiene una longitud de 25 cm antes de continuarse con el yeyuno. Éste último mide unos 2.5 m de longitud y termina con la porción final del intestino delgado, el íleon, que mide 3.6 m de longitud y se continúa con el intestino grueso a través del esfínter ileocecal.

La pared del intestino delgado consiste en las cuatro capas histológicas características de la mayor parte del tubo digestivo: capa mucosa, submucosa, muscular y serosa.

La capa mucosa del intestino delgado (duodeno) presenta numerosas depresiones revestidas por epitelio glandular, las glándulas intestinales (criptas de Lieberkühn), que secretan jugo intestinal. La submucosa del duodeno posee las glándulas duodenales (glándulas de Brunner), secretoras de un moco alcalino que protege la pared intestinal contra la acción de enzimas y facilita la neutralización de sustancias ácidas del quimo. Algunas células epiteliales de la mucosa y submucosa están transformadas en células caliciformes, que secretan moco adicional.

Dado que casi toda la absorción de nutrimentos tiene lugar en el intestino delgado, su estructura está adaptada para esta función.

El epitelio que reviste a la mucosa es de tipo cilíndrico simple. Sus células, con excepción de las transformadas en caliciformes, poseen microvellosidades, que son prolongaciones digitiformes de la membrana plasmática.

La mucosa del intestino delgado presenta vellosidades, proyecciones de 0.5 a 1 mm de altura que le confieren su aspecto aterciopelado. El número elevado de tales vellosidades (10 a 40 mm<sup>2</sup>) aumenta considerablemente el área de superficie epitelial disponible para la absorción y digestión.

Cada vellosidad tiene un centro de lámina propia, que es la capa de tejido conectivo de la mucosa. En este tejido, se encuentran incluidos una arteriola, vénula, red de capilares sanguíneos y vasos quilíferos linfáticos.

Además de las microvellosidades y vellosidades, un tercer conjunto de prolongaciones, los pliegues circulares, aumenta todavía más el área de superficie para la absorción y digestión. Estos pliegues son rebordes permanentes de la mucosa, de unos 10 mm de altura. Algunos están presentes en todo el perímetro intestinal, y otros sólo en una parte. Los pliegues se inician cerca de la porción proximal del duodeno y terminan en la porción media del íleo. Aumentan la absorción porque hacen que el quimo describa un movimiento en espiral, y no en línea recta, a su paso por el intestino delgado. La altura de los pliegues circulares y vellosidades disminuye en la porción distal del íleon, de modo que la mayor parte de la absorción tiene lugar en duodeno y yeyuno.

La capa muscular del intestino delgado consiste en dos capas de músculo liso. La externa es más delgada y posee fibras longitudinales, mientras que las fibras son circulares en la gruesa capa interna. La capa serosa (o peritoneo visceral) recubre por completo el intestino delgado.

En el intestino delgado, es abundante el tejido linfático en la forma de nódulos linfáticos (folículos linfoides) que son masas de tejido linfático no cubiertas por una cápsula. Los nódulos linfoides solitarios son particularmente numerosos en la porción distal del íleon. A los grupos de folículos linfoides se les denominan folículos linfoides agregados (placas de Peyer) (Leeson, 1987; Tortora, 1989; Di Fiore, 1989; Hebel, 1995).

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Hoy en día, uno de los principales problemas en las grandes ciudades, es la contaminación ambiental, del suelo, agua y aire. El 98% de la contaminación atmosférica se debe a la presencia de monóxido de carbono (52%), óxidos de azufre (18%), hidrocarburos (12%), sustancias particulares (10%), óxidos de nitrógeno (6%).

Los hidrocarburos son de los principales contaminantes atmosféricos que causan problemas de la salud, siendo la acroleína uno de los más importantes, se ha detectado en algunos vegetales, animales, inclusive en bebidas y alimentos, representa del 3-10 % de los aldehídos totales presentes en los escapes de automóviles, así como contribuyente importante de la cualidad irritativa del humo del cigarrillo y de la niebla fotoquímica, por lo tanto, la población al estar expuesta, puede presentar lesiones orgánicas provocando serios deterioros a la salud.

Como puede observarse en los antecedentes toxicológicos de la acroleína (contaminante ambiental y ocupacional), en animales de laboratorio y humanos, la mayoría de los investigadores han estudiado el efecto que produce en sistema respiratorio; sin embargo son pocos los autores que describen el efecto tóxico producido por esta sustancia en otros sistemas orgánicos. Esto puede ser debido a que la mayoría de ellos utilizó la vía de administración inhalatoria en sus experimentos y su atención se orientó hacia el estudio histopatológico de vías respiratorias superiores e inferiores, así como del parénquima pulmonar.

Sin embargo, a nivel de alvéolos pulmonares hay presencia de capilares sanguíneos, a través de los cuales y por vía sanguínea, la acroleína puede ser transportada a todo el organismo; por lo que la finalidad de este trabajo fue realizar el estudio histológico de estómago y duodeno de las ratas expuestas experimentalmente a la acroleína en concentraciones representativas del nivel atmosférico e industrial detectados, para poder determinar el daño orgánico (efecto citotóxico) que causa; así como determinar la dosis-respuesta y realizar la correlación de dichas posibles alteraciones con la sintomatología clínica que

presentan los humanos que habitan en zonas altamente contaminadas y ocupacionalmente expuestos.



#### **IV. OBJETIVOS**

- ◆ Determinar el efecto citotóxico producido por la acroleína en estómago y duodeno en ratas intoxicadas experimentalmente.
  
- ◆ Correlacionar los posibles daños orgánicos observados en estómago y duodeno con las dosis de intoxicación con acroleína (11.2 ó 25 mg/kg de p.c.).
  
- ◆ Relacionar los posibles daños orgánicos observados con la sintomatología clínica que presentan las personas expuestas a éste contaminante ambiental.

## V. HIPÓTESIS

Si la acroleína se encuentra presente en el aire atmosférico como contaminante ambiental, las personas expuestas la absorben por tracto respiratorio, por lo que puede llegar a la zona alveolar del pulmón, entonces, se asume que por medio del flujo sanguíneo, puede ser transportada hacia otros órganos, como estómago y duodeno, en los cuales puede causar alteraciones histológicas.

## **VI. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **A. Material:**

#### **1. Material biológico:**

35 ratas Wistar hembras de 10 semanas de edad y con un peso promedio de 180 g.

#### **2. Reactivos**

- ◆ Ácido clorhídrico concentrado. Merck.
- ◆ Acroleína en solución al 90 % en agua. Sigma.
- ◆ Ácido fosfotúngstico. Merck.
- ◆ Alcohol etílico absoluto. Merck.
- ◆ Alcohol etílico al 96 %. Merck.
- ◆ Alumbre de potasio. Merck,
- ◆ Cloroformo. Merck.
- ◆ Formaldehído al 37.3 %. Baker.
- ◆ Gelatina. J.T. Baker.
- ◆ Hidróxido de amonio concentrado. Merck.
- ◆ Óxido mercuríco. Merck.
- ◆ Parafina histológica con punto de fusión 51-54°C. Merck.

- ◆ Parafina histológica con punto de fusión 54-56°C. Merck.
- ◆ Parafina Histosek, Merck de p.f. 56-58°C.
- ◆ Resina sintética. Sigma.
- ◆ Xilol. Merck.

### **3. Colorantes**

- ◆ Eosina amarillenta. Merck.
- ◆ Eosina azulosa. Merck.
- ◆ Fucsina básica. Merck.
- ◆ Hematoxilina en polvo. Merck.
- ◆ Orange G. Merck..

### **4. Material de vidrio**

- ◆ Agitadores de vidrio de 20 cm de longitud.
- ◆ Cajas de petri de 20 x 100 mm Pyrex.
- ◆ Cajas de coloración. Coplin para 30 preparaciones.
- ◆ Cubre objetos de 22 x 22mm. Corning
- ◆ Cubreobjetos 24 x 50. Corning.
- ◆ Embudos de vidrio de tallo largo de 20 cm. Pyrex.
- ◆ Frascos gotero ámbar de 60 ml.
- ◆ Frascos de boca ancha de 250 ml con tapón de rosca.
- ◆ Matraces Erlenmeyer de 100, 500 y 1000 ml. Pyrex

- ◆ Pipetas graduadas de 1,5 y 10 ml. Pyrex
- ◆ Portaobjetos de 26 x 76 mm. Madesa.
- ◆ Probetas graduadas de 10, 50 y 100 ml. Pyrex.
- ◆ Vasos de precipitado de 100, 500 y 1000 ml. Pyrex.

## **5. Equipo**

- ◆ Balanza granataria. OHAUS, modelo
- ◆ Baño de flotación W.H. Curtin modelo CSE, serie 2461A
- ◆ Estufa eléctrica RIOSA. Mod. EC. Serie ECME.
- ◆ Microscopio binocular Carl Zeiss, modelo 46511958
- ◆ Microscopio Nikkon con cámara, modelo FX-35DX
- ◆ Microtomo Minot de parafina E. Leitz Wetzlar, modelo 1212, serie 26573
- ◆ Platina de calentamiento Thermolyne, modelo MPA-1900, serie 1913B

## **6. Varios**

- ◆ Aguja de disección. Sin marca.
- ◆ Algodón.
- ◆ Canastillas metálicas de coloración para 30 preparaciones.
- ◆ Cuchilla de acero para microtomo de parafina de 10 cm de longitud.
- ◆ Charola de disección.
- ◆ Gasa.
- ◆ Hilo (cáñamo o hilaza).

- ◆ Hojas de bisturí No. 24.
- ◆ Lámpara de alcohol
- ◆ Lápiz con punta diamante
- ◆ Mango de bisturí para hojas intercambiables.
- ◆ Mechero Bunsen.
- ◆ Moldes metálicos para inclusión.
- ◆ Navaja Gillette.
- ◆ Papel filtro.
- ◆ Pinceles.
- ◆ Pinzas de disección de acero de 10 cm de longitud, punta roma
- ◆ Rejilla de asbesto.
- ◆ Reloj de intervalos de 2 h. General Electric
- ◆ Termómetro con una graduación de 20-150°C.
- ◆ Tijeras de disección punta recta.

**B. Métodos:**

**1. Selección de dosis, vía de administración y tiempos de exposición a la acroleína.**

Tomando en cuenta los niveles atmosféricos de acroleína detectados en diversos lugares de la Ciudad de México, así como, los datos indicados por otros investigadores de éste campo de estudio, se seleccionaron 2 dosis de acroleína a administrar a las ratas de experimentación: 11.2 y 25 mg/kg de p.c. (peso corporal). La vía de administración fue intragástrica, las cantidades seleccionadas de acroleína se introdujeron hasta el estómago mediante una cánula adaptada a una jeringa y por una sola vez (dosis única).

**2. Preparación de las soluciones de trabajo**

Se prepararon soluciones acuosas de trabajo de acroleína, representativas de las dosis seleccionadas.

Se trabajó con un frasco de 25 ml. de acroleína marca Sigma al 90% en agua. Se calculó la densidad de la misma, para lo cual se tomó una alícuota de 200 microlitros y se pesó en la balanza analítica marca Mettler, siendo de 144 mg.

Aplicando la fórmula  $Densidad (D) = \frac{masa(m)}{volumen(v)}$

$$D = \frac{m}{v} = \frac{144 \text{ mg}}{200 \text{ } \mu\text{l}} = 0.72 \text{ mg}/\mu\text{l}$$

Tomando como peso promedio 180 g, del total de ratas a las que se les administró la dosis de 11.2 mg/kg de p.c.

11.2 mg de acroleína \_\_\_\_\_ 1 kg de p.c.

11.2 mg de acroleína \_\_\_\_\_ 1000 g de p.c.

X \_\_\_\_\_ 180 g (p.c. promedio)

---

X = 2.016 mg de acroleína que se necesita para la administración completa.

La administración fue de 1  $\mu$ l/g de p.c.

Por lo tanto se requirieron de 180  $\mu$ l para 180 g de p.c. del total de las ratas.

La solución acuosa de acroleína se hizo en un matraz aforado, por lo tanto:

180 $\mu$ l \_\_\_\_\_ 2.016 mg

25000 $\mu$ l \_\_\_\_\_ X

---

X = 280 mg de acroleína para 25 ml

Para conocer la alícuota que se tomaría del reactivo original, representativa de 280 mg de acroleína se hizo lo siguiente:

D = m/v , despejando  $v = m/D$   $280\text{mg} / 0.72 \text{ mg}/\mu\text{l} = 388.8 \mu\text{l}$  .

La alícuota de la solución de acroleína a tomar fue de 388.8  $\mu$ l de la solución original al 90%.



Para saber qué alícuota se tomaría de una solución acuosa de acroleína al 100% se hizo lo siguiente:

$$\begin{array}{r} 388.8 \mu\text{l} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 90 \% \\ X \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 100 \% \end{array}$$

---

$$X = 432 \mu\text{l de acroleína}$$

La solución de trabajo de acroleína se realizó tomando 432  $\mu\text{l}$  de la solución original de acroleína y aforando en matraz balón de 25 ml con agua destilada estéril.

**3. Cálculo de las alícuotas de la solución de trabajo por administrar a las ratas de experimentación, representativas de las dos dosis de acroleína seleccionadas.**

**Ejemplo No. 1:**

Dosis 11.2 mg de acroleína / kg de p.c. Si el p.c. de una rata fue de 150 g.

$$\begin{array}{r} 11.2 \text{ mg} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 1000\text{g} \\ X \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 150 \text{ g} \end{array}$$

---

$$X = 1.68 \text{ mg}$$

Se tiene que: 280 mg de acroleína se diluyeron en 25 ml de agua destilada.

$$\text{Por lo tanto : } \frac{280 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 11.2 \text{ mg/ml} = 0.0112 \text{ mg}/\mu\text{l}$$

Recordando que se administró 1  $\mu\text{l}$  de la solución de acroleína/g de p.c.

Para una rata que pesa 150 mg se tiene que:

$$\begin{array}{l} 0.0112 \text{ mgl} \quad \underline{\quad} \quad 1 \mu\text{l} \\ 1.68 \text{ mg} \quad \underline{\quad} \quad X \end{array}$$

---

$$X = 150 \mu\text{l} \text{ (Alícuota representativa de la dosis de } 11.2 \text{ mg/kg de p.c. de rata)}$$

Comprobando por otra vía se llegó al mismo resultado:

Para calcular la dosis 11.2 mg de acroleína / kg de p.c. para una rata que pesó 150 g:

$$\begin{array}{l} 11.2 \text{ mg} \quad \underline{\quad\quad\quad} \quad 1000 \text{ g} \\ X \quad \underline{\quad\quad\quad} \quad 150 \text{ g} \end{array}$$

---

$$X = 1.68 \text{ mg}$$

Si la administración fue de 1  $\mu$ l de la solución de trabajo a una rata que pesó 150 g, alícuota representativa de la dosis de acroleína de 11.2 mg/kg p.c.

**Ejemplo No. 2**

Para calcular la dosis 25 mg de acroleína / kg p.c. para una rata que pesó 150 g:

$$\begin{array}{r} 11.2 \text{ mg} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 1000 \text{ g} \\ X \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 150 \text{ g} \\ \hline X = 3.75 \text{ mg} \end{array}$$

Si la administración fue de 1  $\mu$ l de la solución de acroleína / g de p.c.  
280 mg de acroleína se diluyeron en 25 ml de agua.

$$\begin{array}{l} 280 \text{ mg} \\ \underline{\hspace{2cm}} = 1.2 \text{ mg/ml} = 0.0112 \text{ mg}/\mu\text{l} \\ 25 \text{ ml} \end{array}$$

0.0112 mg \_\_\_\_\_ 1  $\mu$ l

3.75 mg \_\_\_\_\_ X

---

X = 334.82  $\mu$ l (alícuota de la solución de trabajo de acroleína por administrar a una rata de 150 g de p.c., y representativa de la dosis de 25 mg / kg de p.c.)

#### 4. Distribución de lotes de animales de experimentación

Se trabajó con 35 ratas Winstar hembras de 10 semanas de edad, a las que se les administró por vía intragástrica y por una sola vez (dosis única) las siguientes dosis.

Lote No	No de ratas	Dosis de acroleína (mg/kg de p.c.)	Tiempo de exposición (hr)
1	5	0.0	
2	5	11.2	24
3	5	11.2	48
4	5	11.2	96
5	5	25.0	24
6	5	25.0	48
7	5	25.0	96

## **5. Sacrificio de los animales experimentales**

Al término de las exposiciones a las dosis de acroleína, las ratas se sacrificaron con cloroformo y por medio de la técnica de disección anatómica se obtuvieron los órganos del sistema digestivo (estómago y duodeno).

## **6. Tratamiento histológico de los órganos obtenidos de las ratas de experimentación, para su estudio microscópico**

Los órganos obtenidos de cada una de las ratas se sometieron a todos los procesos de la técnica histológica (fijación, lavado, deshidratación, transparentación, inclusión en parafina, obtención de cortes por parafina, desparafinación, y tinción ), hasta la obtención de laminillas histológicas, en las que se realizó el análisis microscópico, para determinar las alteraciones morfológicas producidas por las diferentes dosis y tiempos de exposición a la acroleína.

### **Fijación**

Es la acción de fijar los componentes tisulares o celulares en un momento determinado, deteniendo sus funciones y estabilizando indefinidamente su estructura.

### **Los objetivos de la fijación son:**

- a) Prevenir los cambios post - mortem, como la autólisis y la putrefacción
- b) Preservar las estructuras de la manera más cercana a como éstas se encontraban en vida del ejemplar en estudio.
- c) Otorgar resistencia al material para que soporte las manipulaciones subsecuentes.

- d) Aumentar la afinidad natural por los colorantes que se emplearán para visualizar los diferentes componentes tisulares o celulares.

Los tejidos se fijaron en una solución acuosa de formol al 10 % por más de 48 horas, posteriormente se obtuvieron fragmentos de 1 cm de cada uno de ellos, que se colocaron en bolsas de gasa, para evitar dañarlos con la manipulación, y se etiquetaron.

### **Deshidratación**

Se realiza para eliminar el agua presente en los órganos, la cual interfiere en el proceso de transparentación e inclusión en parafina.

Se llevó a cabo utilizando alcohol etílico en concentraciones crecientes:

- a) Alcohol etílico al 30 %, 2 cambios de 30 minutos cada uno.
- b) Alcohol etílico al 50 %, 2 cambios de 30 minutos cada uno.
- c) Alcohol etílico al 60 %, 2 cambios de 30 minutos cada uno.
- d) Alcohol etílico al 70 %, 3 cambios de 30 minutos cada uno.
- e) Alcohol etílico al 80 %, 2 cambios de 30 minutos cada uno.
- f) Alcohol etílico al 96 %, 3 cambios de 30 minutos cada uno.
- g) Alcohol etílico absoluto, 3 cambios de 30 minutos cada uno.
- h) Alcohol etílico absoluto - sulfato de cobre, 1 cambio de 20 minutos
- i) Alcohol etílico absoluto – tolueno, 15 minutos.
- j) Tolueno, el tiempo necesario para la transparentación de los órganos, cuya finalidad es sustituir el alcohol y preparar las piezas para recibir la parafina.

### **Inclusión en parafina**

Se realizó para tener un medio lo suficientemente duro y resistente para mantener intactos los componentes tisulares cuando se obtienen cortes de ellos en el microtomo Minot de parafina.

### **Inclusión preliminar en parafina**

- a) Parafina I-Xilol ( punto de fusión 51-54 °C ), en la estufa a 55 °C durante 15 minutos.
- b) Parafina I, en la estufa a 55 °C durante 2 horas.
- c) Parafina II ( punto de fusión 54-56 °C ), en la estufa a 55 °C durante 2 horas.
- d) Parafina III ( punto de fusión 56-58 °C ), en la estufa a 55 °C durante 2 horas.

### **Inclusión definitiva en parafina**

Se utilizó parafina Histosek con punto de fusión de 56-58 °C para formar los bloques cúbicos de parafina con los órganos en su interior, para lo cual se utilizó un molde metálico de inclusión, dividido en compartimentos cúbicos.

### **Obtención de cortes**

Con el microtomo de parafina se realizaron cortes de 6 a 8 micras, en el baño de flotación conteniendo agua con gelatina Q.P. marca Baker, se extendieron y se montaron en portaobjetos; para asegurar su adhesión al portaobjetos, se introdujeron en la estufa a 60 °C, durante 18 horas.

### **Desparafinación de los cortes**

- a) 3 cambios en xilol y uno en alcohol etílico absoluto-xilol, durante 15 minutos en cada reactivo.
- b) Hidratar en alcohol etílico al 96%, alcohol etílico al 70% y agua de la llave, durante 15 minutos en cada reactivo (Herrera y col., 1997)

### **Coloración**

Los cortes se tiñeron mediante las técnicas de Hematoxilina - Eosina, Tricrómica de Masson, Amarillo de Martius y Papanicolaou.

### **Técnica Hematoxilina – Eosina**

Es una técnica topográfica en la que el colorante nuclear, primario y básico es la hematoxilina, que tiñe el núcleo y las estructuras citoplásmicas que tengan carga eléctrica negativa. El colorante secundario, de contraste y ácido es la eosina, que tiñe las estructuras citoplásmicas que presentan carga eléctrica positiva.

La coloración hematoxilina-eosina es regresiva, ya que primero se tiñe en exceso y después se decolora con un diferenciador que es el alcohol ácido. A este proceso se le denomina diferenciación y es el paso crítico en la técnica de coloración, con él, se obtiene un cambio de color del colorante nuclear ( de morado a rosa), por lo que se hace necesario un vire en el pH para que el colorante adquiera una tonalidad morada o azul y de esta manera exista un buen contraste con el citoplasma celular (que se tiñe de rosa), lo cual permitirá un buen diagnóstico histológico.



## **Procedimiento**

- ◆ Desparafinación de los cortes
- ◆ Colorear con Hematoxilina de Harris, durante 15 minutos.
- ◆ Lavar con agua de la llave, durante 1 minuto.
- ◆ Diferenciar en alcohol ácido, durante 15 segundos.
- ◆ Lavar con agua de la llave, durante 1 minuto
- ◆ Virar el pH con agua amoniacal, durante 15 segundos.
- ◆ Lavar con agua de la llave, 3 cambios de 1 minuto cada uno.
- ◆ Lavar con agua destilada, durante 5 minutos
- ◆ Teñir con Eosina durante 1 minuto.
- ◆ Deshidratar en alcohol etílico al 96% ( 10 segundos ), alcohol etílico absoluto-xilol ( 10 minutos ) y en xilol ( 3 cambios de 2 horas cada uno )
- ◆ Montar con resina sintética en xilol.

## **Resultados**

Núcleos

Azules o Morados

Citoplasma o fondo

Rosa o Naranja

(Herrera y col., 1997)

## **Técnica de Papanicolaou**

La técnica de Papanicolaou es de rutina en el examen de células descamadas humanas, de manera que tiene valor diagnóstico; se puede emplear también en frotis de hemolinfa, en cortes por parafina, en donde proporciona datos indicativos y diferenciales entre el tejido colágeno y muscular; o bien, entre queratina y quitina. (Uria y Mora, 1996)

### **Procedimiento**

- ◆ Desparafinación de los cortes.
- ◆ Teñir con Hematoxilina de Harris, durante 2 min.
- ◆ Lavar con agua corriente
- ◆ Diferenciar en alcohol ácido, durante 15 seg
- ◆ Virar con agua amoniacal
- ◆ Lavar con agua corriente.
- ◆ Deshidratar con alcohol de 96%, durante 2 min.
- ◆ Alcohol etílico al 50%, durante 30 seg.
- ◆ Alcohol etílico al 70 %, durante 30 seg.
- ◆ Alcohol etílico al 90%, durante 30 seg.
- ◆ Teñir con Anaranjado G, durante 3 min
- ◆ Alcohol etílico al 96% I, durante 30 seg.
- ◆ Alcohol etílico al 96% II, durante 30 seg.
- ◆ Alcohol etílico al 96% III, durante 30 seg.
- ◆ Teñir con EA-50, durante 3 min.
- ◆ Alcohol etílico al 96% I, durante 30 seg.

- ◆ Alcohol etílico al 96% II, durante 30 seg.
- ◆ Alcohol etílico al 96% III, durante 30 seg.
- ◆ Alcohol etílico absoluto, durante 1 min.
- ◆ Alcohol etílico absoluto-xilol, durante 1 min.
- ◆ Xilol, durante 10 min.
- ◆ Montar con resina sintética en Xilol

## **Resultados**

Núcleo	Morados
Citoplasma	Rojo, Naranja
Colágena	Verde claro
Músculo	Rojo (Uría y Mora, 1996)
Eritrocitos	Naranja

## **Análisis Microscópico**

Realizar el análisis microscópico para determinar el efecto de la acroleína en estómago y duodeno de las ratas de experimentación.

Obtención de fotografías con un fotomicroscopio Nikkon. Se obtuvieron de los diferentes órganos de cada lote de animales intoxicados, así como de los testigos.

## VII. RESULTADOS

El análisis microscópico realizado en estómago y duodeno de las ratas testigo y de las intoxicadas con las dosis de acroleína seleccionadas demostró lo siguiente:

### ESTÓMAGO

La morfología de las cuatro capas histológicas constituyentes del estómago de las ratas testigo fue normal. (fotografía No. 1)

En las ratas tratadas con las dos dosis únicas de acroleína a los diferentes tiempos de exposición, solamente se observaron alteraciones histológicas en las capas mucosa y submucosa del estómago; la muscular y la serosa presentaron histología normal. (Cuadro No. 1).

El estómago de las ratas a las que se les administró la dosis única de 11.2 mg de acroleína/Kg de p.c. presentó las siguientes lesiones: a) en la capa mucosa hubo necrosis (muerte celular), esfacelación (desprendimiento) del epitelio de revestimiento, lámina propia y glándulas gástricas, destrucción glandular y hemorragia (salida de eritrocitos de los vasos sanguíneos hacia los tejidos); b) en la capa submucosa se observó inflamación crónica (caracterizada por la presencia de linfocitos, monocitos y células plasmáticas en los tejidos) y hemorragia. El grado de las lesiones fue de leve a severo (+) y la mayoría proporcionales al tiempo de exposición a la acroleína (fotografías 2 a 7).

Las ratas tratadas con la dosis única de 25 mg de acroleína/Kg de p.c. presentaron las mismas lesiones, el grado de las mismas fue de moderado (+) a severo (+++++) y la mayoría proporcionales al tiempo de exposición a la acroleína (fotografías 8 a 13).

### DUODENO

Las cuatro capas histológicas del duodeno de las ratas testigo presentaron morfología normal (fotografía 14).

En las ratas intoxicadas con las dos dosis únicas de acroleína a los diferentes tiempos de exposición, las capas mucosa y submucosa del estómago fueron las únicas que presentaron alteraciones histológicas, ya que la muscular y la serosa se observaron con histología normal (cuadro No. 2).

Las lesiones que se observaron fueron: a) en la capa mucosa hubo necrosis, esfacelación del epitelio, lámina propia y glándulas de Lieberkühn, destrucción glandular, inflamación crónica y hemorragia; b) en la capa submucosa se observó dilatación de los vasos sanguíneos (aumento del diámetro) y congestión vascular (estancamiento de eritrocitos en la luz de los vasos sanguíneos), así como hemorragia.

En los animales tratados con la dosis única de 11.2 mg de acroleína/Kg de p.c., el grado de las lesiones fue de leve a moderado (+) (fotografías 15 a 20); y en los intoxicados con 25 mg/Kg de p.c. fue de leve a severo (++++), (fotografías 21 a 26); y la mayoría fueron proporcionales al tiempo de exposición.

**CUADRO NO. 1 CITOTOXICIDAD AGUDA PRODUCIDA POR DOS DOSIS ÚNICAS DE ACROLEÍNA EN ESTÓMAGO DE RATAS HEMBRAS, A DIFERENTES TIEMPOS DE EXPOSICIÓN**

Lote No.	Dosis administrada mg/kg p.c.	Tiempo de exposición Horas	MUCOSA				SUBMUCOSA	
			Necrosis	Esfacelación	Destrucción glandular	Hemorragia	Inflamación crónica	Hemorragia
1	0.0	0	---	---	---	---	---	---
2	11.2	24	leve	leve	leve	leve	---	moderada
3	11.2	48	moderada	leve	moderada	leve	leve	moderada
4	11.2	96	severa (+)	moderada (+)	severa (+)	moderada	leve	moderada
5	25.0	24	severa (++)	moderada (++)	severa (++)	severa (+)	moderada	severa (+)
6	25.0	48	severa (+++)	severa (+)	severa (++++)	severa (++)	moderada	severa (++)
7	25.0	96	severa (++++)	severa (+++)	severa (+++++)	severa (++++)	moderada	severa (+++)

--- No se observó

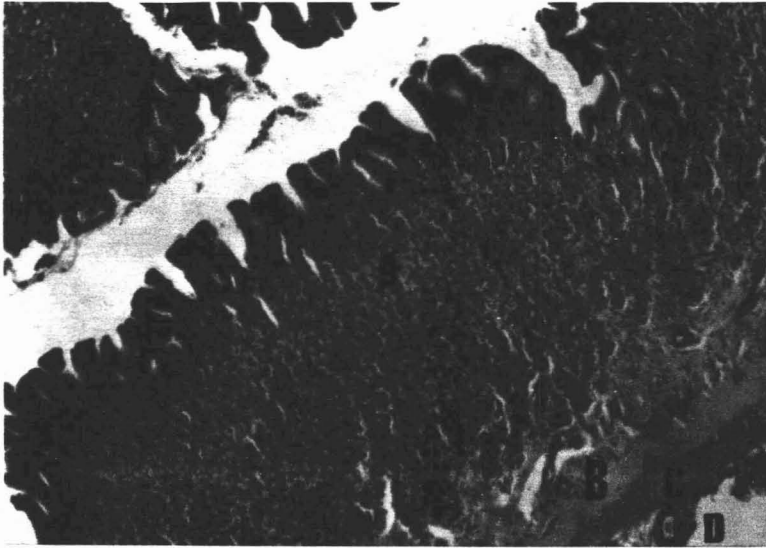
El número de cruces es proporcional al grado de lesión observado

**CUADRO NO. 2. CITOTOXICIDAD AGUDA PRODUCIDA POR DOS DOSIS DE ACROLEÍNA EN DUODENO DE RATAS HEMBRAS A DIFERENTES TIEMPOS DE EXPOSICIÓN**

Lote No.	Dosis administrada mg/kg p.c.	Tiempo de exposición	MUCOSA					SUBMUCOSA	
			Necrosis	Esfacelación	Dstrucción glandular	Inflamación crónica	Hemorragia	Dilatación y congestión vasculares	Hemorragia
1	0.0	0	---	---	---	---	---	---	---
2	11.2	24	leve	leve	leve	severa	leve	---	---
3	11.2	48	moderada	moderada	moderada	severa	leve	moderada	---
4	11.2	96	moderada (+)	moderada (+)	moderada (+)	severa	leve	moderada	---
5	25.0	24	moderada (++)	moderada (++)	moderada (++)	severa	leve	moderada	leve
6	25	48	severa (+++)	severa (+++)	severa (+++)	severa	moderada	moderada	leve
7	25	96	severa (++++)	severa (++++)	severa (++++)	severa	moderada	severa	moderada

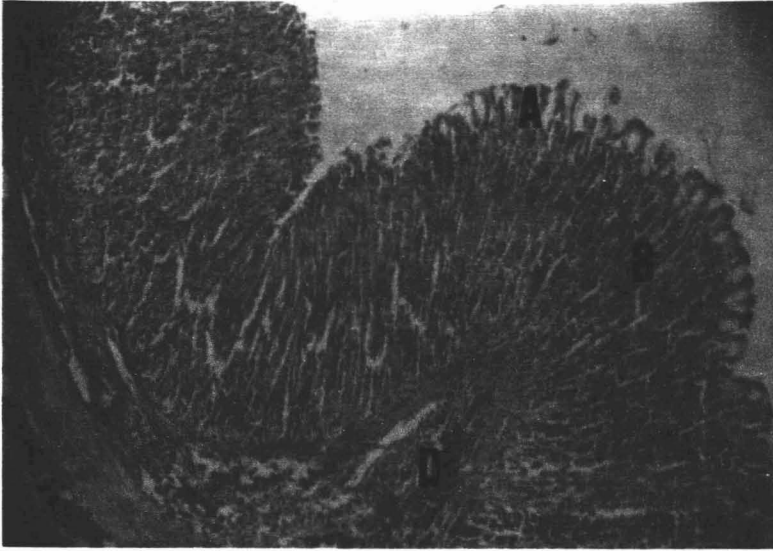
--- No se observó

El número de cruces es proporcional al grado de lesión observado

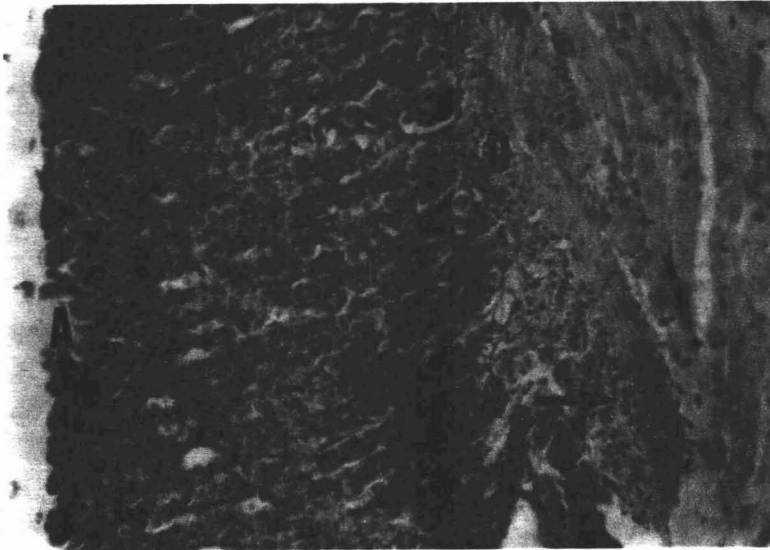
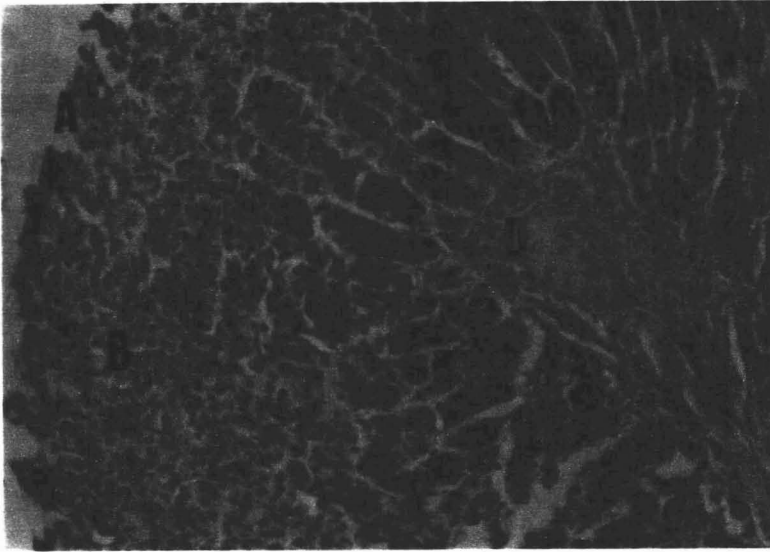


Fotografía 1: Estómago de rata testigo. A) capa mucosa: foseas gástricas revestidas por epitelio cilíndrico simple y lámina propia con glándulas gástricas, B) capa submucosa, C) capa muscular, D) capa serosa. Todas ellas con morfología normal. Técnica hematoxilina-eosina.

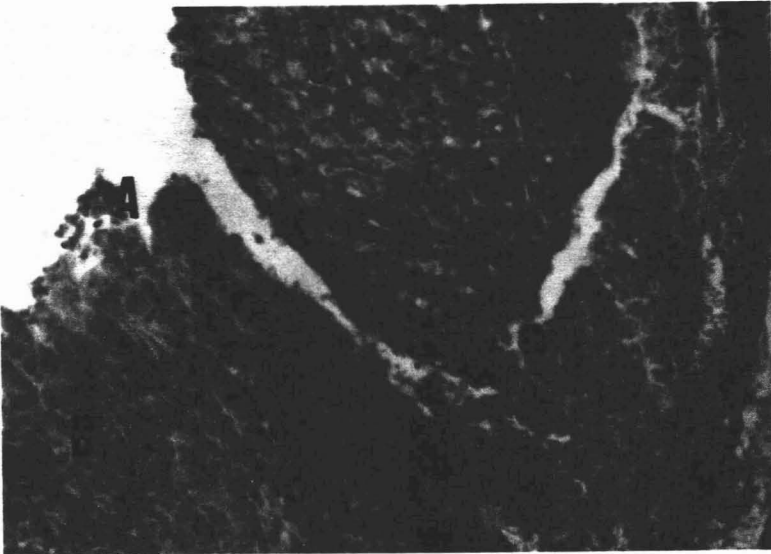
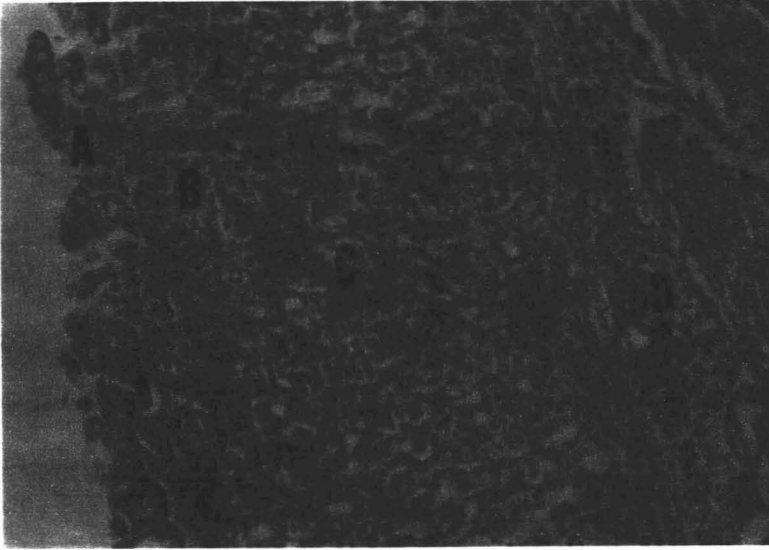




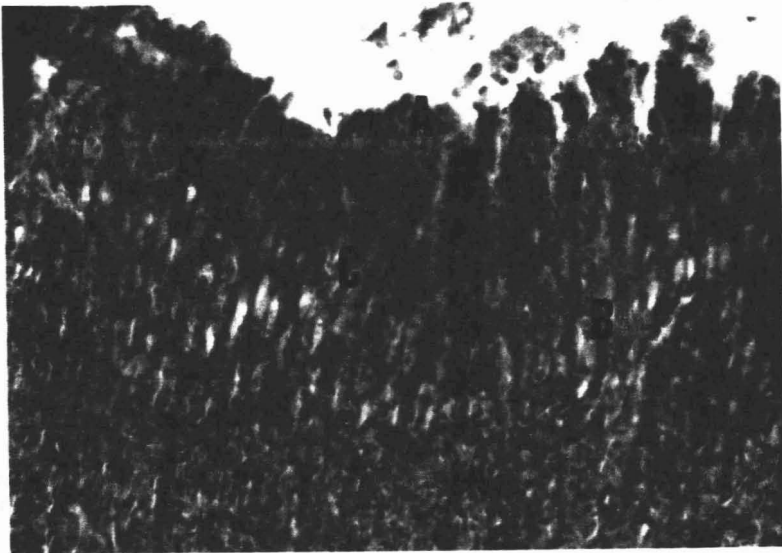
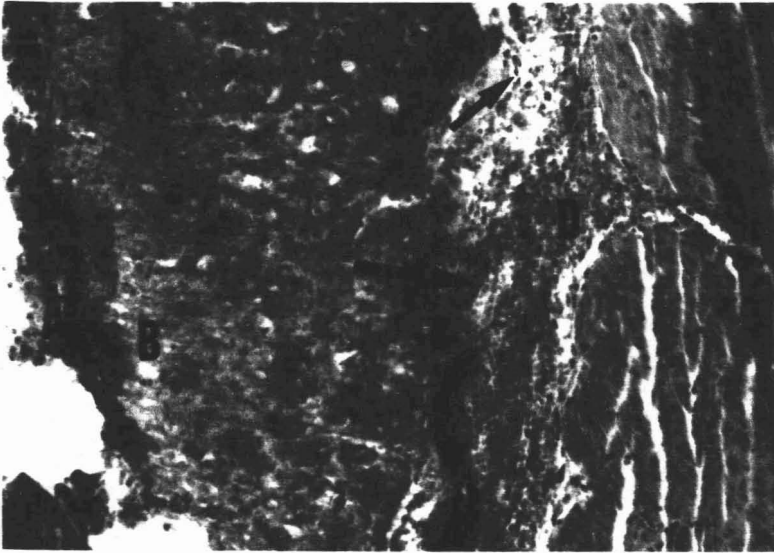
Fotografías 2 y 3. Estómago de ratas intoxicadas con la dosis única de 11.2 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 24 h después. Se observa en la capa mucosa: A) necrosis y esfacelación leves, B) destrucción leve de las glándulas gástricas y C) hemorragia leve. En la capa submucosa: D) hemorragia moderada. Técnica hematoxilina-eosina



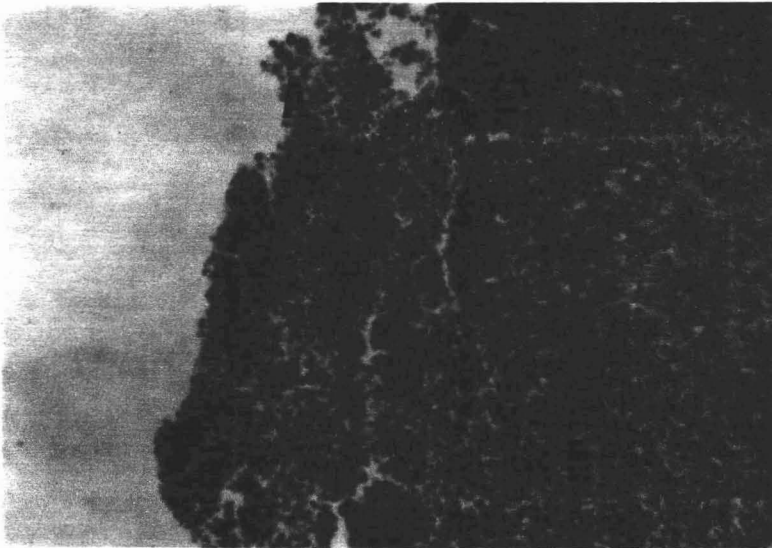
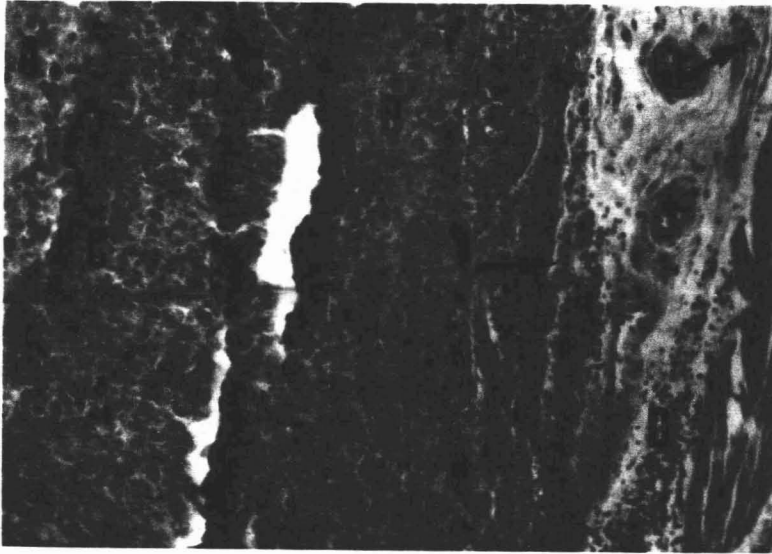
Fotografías 4 y 5. Estómago de ratas intoxicadas con la dosis única de 11.2 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 48 h después. Capa mucosa: A) necrosis moderada y esfacelación leve, B) destrucción glandular moderada, C) hemorragia leve. Capa submucosa: (→) inflamación crónica leve, D) hemorragia moderada. Técnica hematoxilina eosina



Fotografías 6 y 7. Estómago de ratas intoxicadas con la dosis única de 11.2 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 96 h después. Capa mucosa: A) necrosis severa (+) y esfacelación moderada (+), B) destrucción glandular severa (+), C) hemorragia moderada. Capa submucosa: D) hemorragia moderada. Técnica de coloración: fotografía 6 hematoxilina-eosina; fotografía 7 Papanicolaou



Fotografías 8 y 9. Estómago de ratas intoxicadas con la dosis única de 25 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 24 h después. Capa mucosa: A) necrosis severa (++) y esfacelación moderada (++) , B) destrucción glandular severa (++) , C) hemorragia severa (+). Capa submucosa: (→) inflamación crónica moderada (+), D) hemorragia severa (+). Técnica Papanicolaou



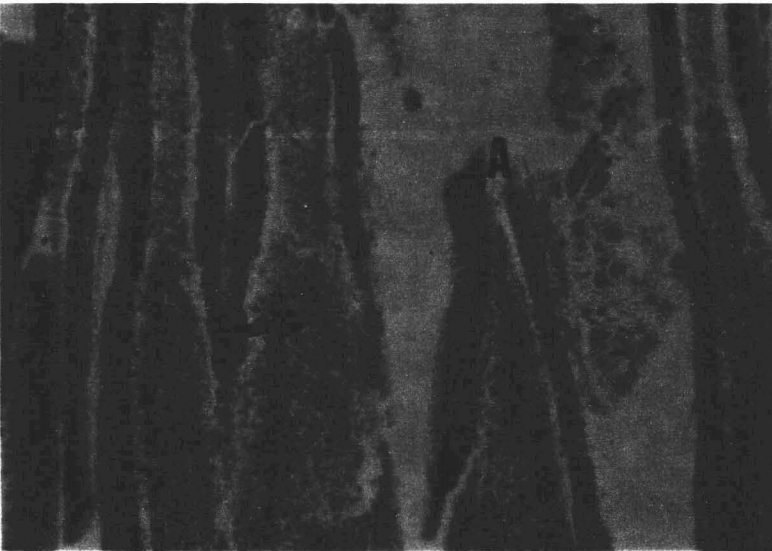
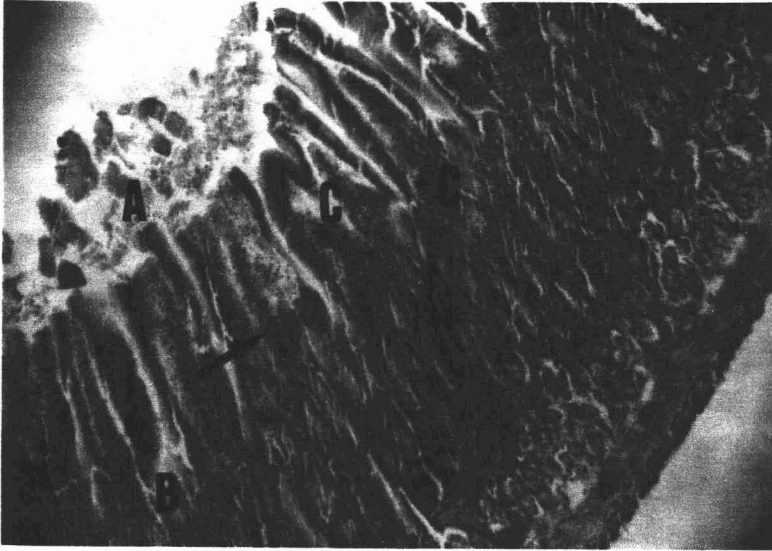
Fotografías 10 y 11. Estómago de ratas intoxicadas con la dosis única de 25 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 48 h después.- Capa mucosa: A) necrosis severa (+++) y esfacelación severa (+); B) destrucción glandular severa (++++), C) hemorragia severa (++) . Capa submucosa: (→) inflamación crónica moderada, D) hemorragia severa (++) . Técnica Papanicolaou.



Fotografías 12 y 13. Estómago de ratas intoxicadas con la dosis única de 25 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 96 h después: Capa mucosa: A) necrosis severa (++++), B) destrucción glandular severa (++++), C) hemorragia severa (++++). Capa submucosa: D) hemorragia severa (+++). Técnica Papanicolaou.

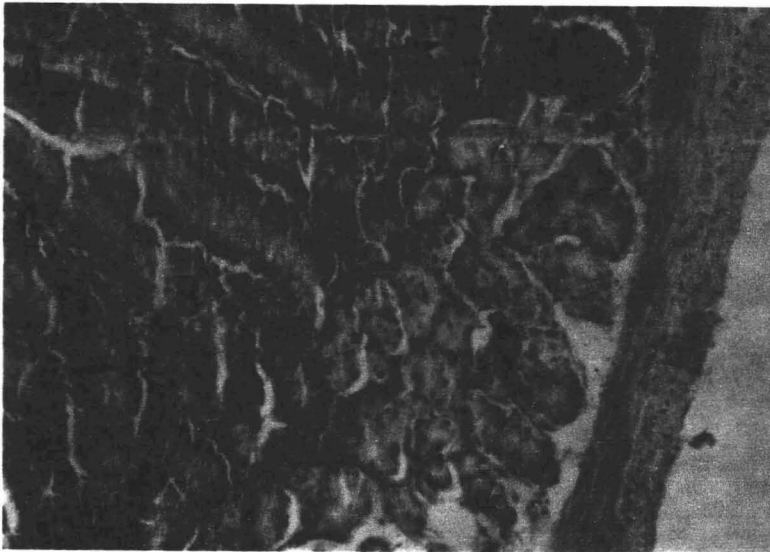
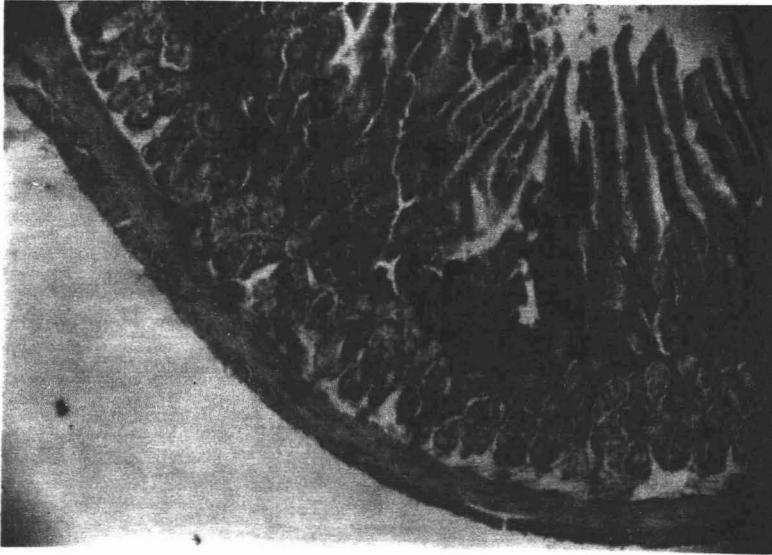


Fotografía 14. Duodeno de rata testigo. A) capa mucosa: vellosidades intestinales revestidas por epitelio cilíndrico simple con chapa estriada y lámina propia con glándulas de Lieberkühn, B) capa submucosa con glándulas de Brunner, C) capa muscular, D) capa serosa. Todas ellas con morfología normal. Técnica hematoxilina-eosina.

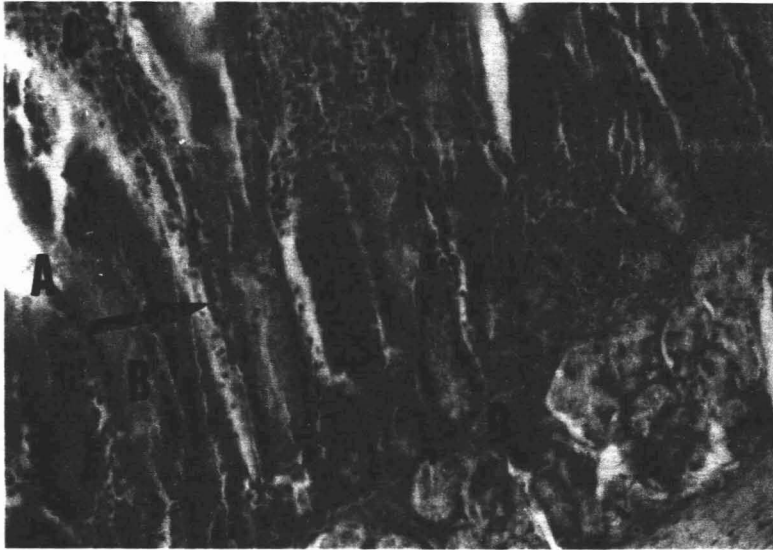


Fotografías 15 y 16. Duodeno de ratas intoxicadas con la dosis única de 11.2 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 24 h después. Capa mucosa: A) necrosis y esfacelación leves, B) destrucción glandular leve, C) inflamación crónica severa, (→) hemorragia leve. Técnica hematoxilina-eosina.

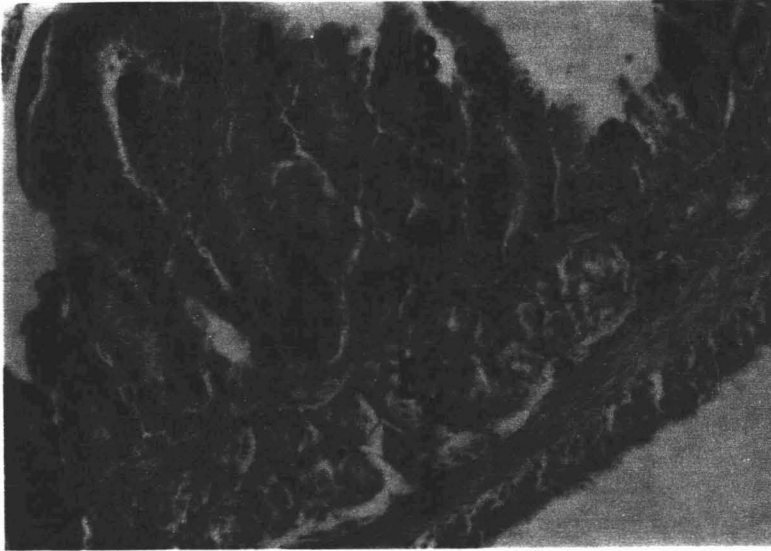




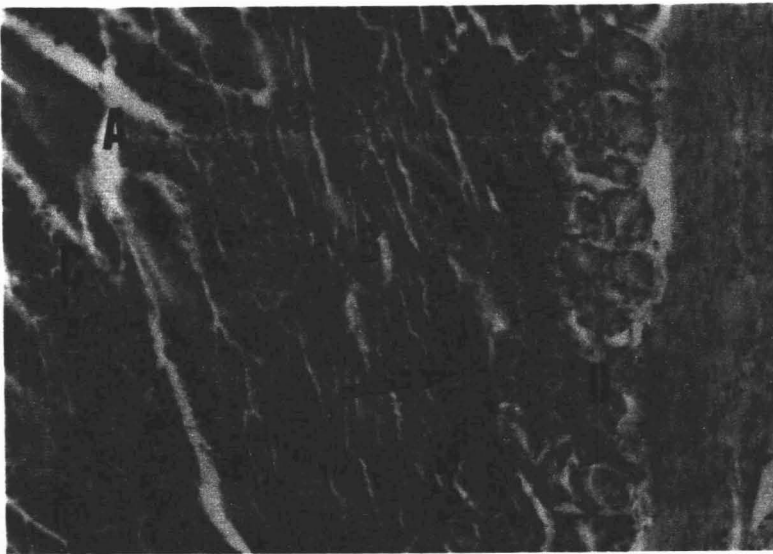
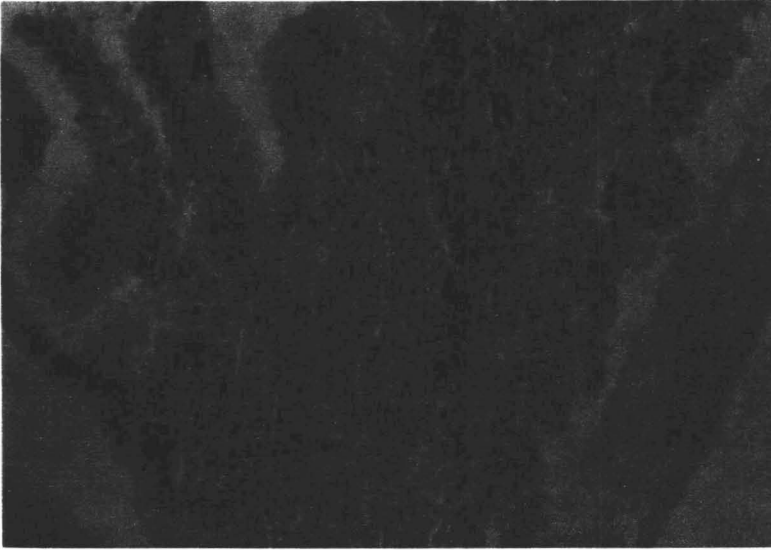
Fotografías 17 y 18. Duodeno de ratas intoxicadas con la dosis única de 11.2 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 48 h después. Capa mucosa: A) necrosis y esfacelación moderadas, B) destrucción glandular moderada, C) inflamación crónica severa, (→) hemorragia leve. Capa submucosa: D) dilatación y congestión vasculares moderadas. Técnica hematoxilina-eosina.



Fotografías 19 y 20. Duodeno de ratas intoxicadas con la dosis única de 11.2 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 96 h después. Capa mucosa: A) necrosis y esfacelación moderadas (+), B) destrucción glandular moderada (+), C) inflamación crónica severa. (→) hemorragia leve. Capa submucosa: D) dilatación y congestión vasculares moderadas. Técnica hematoxilina-eosina.



Fotografías 21 y 22. Duodeno de ratas intoxicadas con la dosis única de 25 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificada 24 h después: Capa mucosa: A) necrosis y esfacelación moderadas (++), B) destrucción glandular moderada (++), C) inflamación crónica severa, (→) hemorragia leve. Capa submucosa: D) dilatación y congestión vasculares moderadas, E) hemorragia leve. Técnica hematoxilina-eosina.



Fotografías 23 y 24. Duodeno de ratas intoxicadas con la dosis única de 25 mg de acroleína/Kg de p.c., sacrificadas 48 h después. Capa mucosa: A) necrosis y esfacelación severas (+++), B) destrucción glandular severa (+++), C) inflamación crónica severa, (→) hemorragia moderada. Capa submucosa: D) hemorragia leve. Técnica hematoxilina-eosina.



Fotografías 25 y 26. Duodeno de ratas intoxicadas con la dosis única de 25 mg de acroleína/kg de p.c., sacrificadas 96 h después. Capa mucosa: A) necrosis y esfacelación severas (++++), B) destrucción glandular severa (++++), C) inflamación crónica severa. (→) hemorragia moderada. Capa submucosa: D) dilatación y congestión vasculares severas. E) hemorragia moderada. Técnica hematoxilina-eosina.

## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las personas están expuestas a los efectos de sustancias químicas presentes en el aire que respiramos, las más propensas a sufrir efectos tóxicos de los contaminantes son las que están en contacto con estos productos en el sitio de trabajo, porque a menudo reciben dosis mayores de ellos que la población en general. A pesar de ello existe una gran desinformación tanto a nivel público como político y académico respecto a las exposiciones de la población a contaminantes.

Los contaminantes atmosféricos penetran al cuerpo principalmente por vía inhalatoria llegando a los pulmones. La absorción de la acroleína se lleva a cabo a nivel de los alvéolos pulmonares, en los cuales se efectúa el intercambio gaseoso, de ahí que la acroleína pasa a la circulación sanguínea distribuyéndose a todos los órganos.

Es importante realizar un estudio sobre la toxicidad de la acroleína como contaminante ambiental, debido a los escasos estudios realizados en México acerca de este compuesto, a pesar de la gama tan amplia de usos que se le dan.

Como se puede apreciar en los resultados, el estómago y duodeno de las ratas testigo presentaron una morfología normal, esto indica que el daño encontrado en los lotes de animales intoxicados con acroleína fue en realidad debido al efecto del contaminante.

En la mucosa del estómago y duodeno de los animales intoxicados con las dosis únicas de acroleína y a diferentes tiempos de exposición se observó un proceso de necrosis con la consiguiente esfacelación (desprendimiento) del epitelio de revestimiento, lámina propia y glándulas gástricas o duodenales (Lieberkühn) destruidas. El grado de estas lesiones fue proporcional a la dosis y al tiempo de exposición.

Las sustancias químicas como la acroleína son directamente citotóxicas, no necesitan ser metabolizadas para lesionar a una célula determinada, se combinan directamente con los constituyentes celulares provocándoles daño irreversible, interactúan de modo directo con la membrana plasmática o con otros constituyentes celulares como el glutatión. La consecuencia funcional de estas alteraciones suele ser la necrosis por coagulación .

La necrosis es una lesión celular irreversible, las alteraciones resultantes en la estructura y función conducen a la muerte de las células y puede definirse como los cambios morfológicos causados por la acción degradadora progresiva de enzimas sobre la célula lesionada mortalmente.

Há y dos procesos esenciales que desencadenan los cambios de la necrosis: 1) digestión enzimática de la célula y 2) desnaturalización de proteínas. Las enzimas catalíticas se derivan de los lisosomas de las células muertas, en cuyo caso la digestión enzimática se denomina autólisis.

Los datos distintivos de muerte celular se encuentran en el núcleo: puede reducirse la basofilia de la cromatina (cariólisis); la picnosis se caracteriza por disminución del volumen nuclear y basofilia aumentada; en la cariorrexis el núcleo picnótico o parcialmente picnótico se fragmenta. Con el tiempo (un día o dos), en una u otra forma el núcleo desaparece totalmente de la célula necrótica, en tanto que el citoplasma puede transformarse en una masa acidófila, granular y opaca. Esa acidofilia es originada por la desnaturalización de las proteínas citoplásmicas y por la activación de la ácidorribonucleasa que destruye al RNA citoplásmico normalmente basófilo. La célula necrótica se convierte en un armazón acidófilo y anucleado. En la masa de células necróticas puede haber necrosis de coagulación, en la que la subsecuente acidosis intracelular en aumento, desnaturaliza no sólo las proteínas estructurales sino también las proteínas enzimáticas y bloquea la proteólisis de la célula. El proceso de necrosis de coagulación es característico de la muerte hipóxica de las células en todos los tejidos (Majno G., 1995; Robins, 1992).

En la capa mucosa del duodeno y submucosa del estómago se presentó reacción inflamatoria de tipo crónico. El propósito de ésta es localizar y eliminar el agente causal, limitar la lesión tisular y restaurar el tejido a la normalidad o a un estado lo más posible a lo normal. Puede deberse a la acción de sustancias químicas, como en este caso la acroleína. Los componentes celulares característicos de esta lesión fueron linfocitos, monocitos y células plasmáticas (Robins, 1992; Contreras, 1990).

En el duodeno, el grado de lesión fue severo desde la dosis más baja y menor tiempo de exposición, manteniéndose igual en los animales intoxicados con la dosis más alta y a mayor tiempo de exposición. En el estómago fue más drástica en los animales tratados con la dosis más alta. La lesión no fue proporcional al tiempo de exposición en ambos órganos.

Egle y Hudgins, en 1992 encontraron insuficiencia cardiaca en ratas intoxicadas con acroleína y considerando que la insuficiencia cardiaca consiste en un síndrome caracterizado por la incapacidad del corazón para producir un gasto sistólico adecuado a las necesidades metabólicas de los tejidos y las consecuencias hemodinámicas son disminución del gasto sistólico inferior al retorno venoso, lo que origina disminución del llenado del sistema arterial y estancamiento de la sangre en el sistema venoso, la insuficiencia congestiva afecta diferentes órganos.

Todo lo anterior coincide con los daños encontrados en la capa submucosa del duodeno, los vasos sanguíneos se observaron congestionados y dilatados. La insuficiencia cardiaca también da lugar a congestión pasiva como fenómeno sistémico que consiste en el aumento de la cantidad de sangre dentro del aparato circulatorio con dilatación de los vasos microscópicos producida por una disminución de flujo venoso sanguíneo. Esta congestión puede producir un incremento de la hemoglobina desoxigenada en la sangre, dando lugar a cianosis, uno de los síntomas que se observa en la intoxicación por acroleína. Estas 2 lesiones fueron más drásticas en los animales intoxicados con la dosis más alta y no fueron proporcionales al tiempo de exposición.

Otra alteración relacionada con la congestión pasiva de los vasos sanguíneos es la presencia de focos hemorrágicos, que es la salida de sangre del interior del aparato circulatorio a los tejidos vecinos. El epitelio vascular es afectado, permitiendo la salida de eritrocitos por un fenómeno de diapédesis. En la capa submucosa del duodeno se observó que la presencia mayor en número de focos hemorrágicos coincidió con el mayor grado de congestión vascular, siendo que en la capa mucosa el mayor grado de lesión se presentó en los animales tratados con la dosis más alta de acroleína. En las capas mucosa y



submucosa gástricas el grado de lesión fue proporcional a la dosis y al tiempo de exposición.

f

g

h

## IX. CONCLUSIONES

- ◆ Sólo las ratas intoxicadas con las dos dosis únicas de acroleína (11.2 y 25 mg/kg de p.c.), presentaron alteraciones histológicas significativas en las capas mucosa y submucosa del estómago y duodeno.
  
- ◆ La acroleína produjo lesiones en los 2 órganos en estudio, tales como: necrosis, esfacelación y destrucción glandular en la capa mucosa. En la mucosa del duodeno y submucosa gástrica se observó también inflamación crónica. En la submucosa del duodeno hubo dilatación y congestión vasculares. La hemorragia se presentó en la mucosa y submucosa de ambos órganos.
  
- ◆ El grado de la mayoría de las lesiones fue proporcional a la dosis y al tiempo de exposición. Sólo la inflamación crónica en la mucosa gástrica fue severa en todos los animales de experimentación tratados con las diferentes dosis de acroleína y a los diferentes tiempos de exposición. La hemorragia observada en ambas capas del duodeno, así como la dilatación y congestión vasculares en la submucosa duodenal, fueron más drásticas en los animales tratados con la dosis más alta y a mayor tiempo de exposición.
  
- ◆ La conclusión final de este trabajo es que la acroleína ejerció efecto citotóxico en el estómago y duodeno de las ratas intoxicadas experimentalmente.

## X. BIBLIOGRAFIA

Baker R.R., Dyamond H.F. and Shillabeer P.K. (1991). Determination of alfa y beta unsaturated compounds formed by a burning cigarette. *Anal. Proc. (Lond.)*. 21:135-137.

Beauchamp R.O., Andjelkovich D.A., Kligerman A.D., Morgan K.T. and Heck H.A. (1985). A critical review of the literature on acrolein toxicity. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 14: 309-380.

Bermudez E., Cher Z., Gross E.A., Walker C.L., Recio L., Pluta L. and Morgan K.T. (1994). Characterization of cells lines derived from acrolein induced nasal tumors in rats. *Res. Triang. Park.* 9: 193-194.

Cohen M.S.O, Garland E.M., John M., Okamura T. and Smith R.A. (1992). Acrolein initiates rat urinary bladder carcinogenesis. *Cancer Research.* 52: 3577-3581.

Contreras R. (1990). *Anatomía Patológica General*. 1a. ed. Ed. Interamericana, México. pp 71-74.

Crane C.R., Sanders D.C. Endecott B.R. and Abbott J.K.(1986). *Inhalation Toxicology*. VII. Times to incapacitation and death for rats exposed continuously to atmospheric acrolein vapor. Washington, D.C., Federal Aviation Administration. Office of Aviation Medicine.

Di Fiore M.S.H. (1989). *Atlas de Histología Normal*. 7ª. ed. Ed. El Ateneo Buenos Aires, Argentina. pp 138-143.

Draminsky W., Eder F. and Henschler. D. (1993). A new pathway of acrolein metabolism in rats. *Arch. Toxicol.* 52: 243-247.

Dreisbach R. (1984). *Manual de Toxicología Clínica*. 6ª. ed. Ed. El Manual Moderno. México D.F. pp 167-171.

Egle J.I. and Hudgins P.P. (1992). Dose-dependent sympathomimetic and cardio inhibitory effects of acrolein in the anesthetized rats. *Toxicol. Appl Pharmacol.* 28:358-360.

Feron V.J., Kruyssen A., Til H.P. and Immel H.R. (1990). Repeated exposure to acrolein vapour: subacute studies in hamsters, rats and rabbits. *Toxicology.* 9: 47-57.

Freshening J.T. (1993). The air on in door air pollution. *Risk Management.* 40:66

Ghilarducci D.P. and Tjeerdema R.S. (1995). Fate and effects of acrolein. *Environ-Contam-Toxicol.* 144 : 95-146.

Goodman Gilman A.T., Rall W., Nies S. And Taylor P. (1994). *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.* 8ª. ed, Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. pp 1559-1562.

Gosselin B., Watiel F., Chopin C., Degano P., Fruchart J.C., and Crasquin O. (1991). Intoxication aigue par l'acroleine, une observation. *Neun, Presse. Med.* 8: 2469-2472.

Guerra G.L.M. 1995. *El aire nuestro de cada día.* 1ª. ed. Editorial Diana. pp 63-115.

Hebel R. and Stromberg M.W. (1995). *Anatomy of the Laboratory Rat.* The Williams and Wilkins Company. Baltimore. pp 59-61.

Herrera M.J., Becerril M.M., Arita T.B., Castañeda H.M. y Pérez G.M:A. (1997). *Manual de Anatomía Humana.* Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México D.F. pp 15, 16, 18-20, 214-217.

Hess L.G., Kurtz A.N. and Stanton D.B. (1990). Acrolein and derivatives. *Encyclopedia of Chemical Technology.* 3rd ed. New York. Wiley Interscience. Vol. 1. pp 277-297.

Horvath J.J., Witmwr M. and Witz G. (1992). Nephrotoxicity of the 1:1 acrolein-glutathione adduct in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 117: 200-207.

IARC (1985). Allyl compounds, aldehydes, epoxides and peroxides. *Lyons International Agency for Research on Cancer.* 36: 133-161.

Jakab J.G. (1993). The toxicologic interactions resulting from inhalation of carbon black and acrolein on defenses pulmonary. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 121: 167-175.

Kumar R., Camarie S.P., Tamer A., Gwin P. and James P.K. (1996). Studies on the basis for the toxicity of acrolein mercapturates. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 140: 487-498.

Lee B.P., Morton R.F. and Lee L.Y. (1992). Acute effects of acrolein on breathing: role of vagal bronchopulmonary afferents. *J. Appl. Physiol.* 72: 1050-1056.

Leeson C.P. y col. (1987). *Histología.* 5a ed. Ed. Interamericana. México, D.F. pp 405-425.

Linhart I., Frantik E., Vodickova M., Smajkal J. and Mitera J. (1996). Biotransformation of acrolein in rat: excretion of mercapturic acids after inhalation and intraperitoneal injection. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 136: 155-161

Lyon J.P., Jenkins L.J., Jones R.A., Coon R.A. and Siegel J. (1990). Repeated and continuous exposure of Laboratory animals to acrolein. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 17: 726-732.

Majno. G. (1995). Cellular death and necrosis. Chemical, physical and morphologic changes. *Virchows Arch.* 33: 421.

Morrison R.T. and Boyd R.N. (1986). *Química Orgánica.* 2a ed. Ed. SITESA. México D.F. pp 734-425.

Nordone A. J., Kovacs M. F. and Doaner R. (1997). 14 C acrolein accumulation and metabolism in leaf lettuce. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 58: 787-792.

Nordone A.J., Matherly R., Bonnivier B., Doane R., Caravelle H., Pakonen S., Winchester R. and Parent R. A. (1996). Effect of magnacide herbicide residuals on water quality within wild life refuges of the klamath basin, C.A. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56: 964-970

Parent R.A., Halina E.C., Balmar F.M., Shellenberger T.E. and Long J.E. (1992). One year toxicity of orally administered acrolein to rats. *J. Appl. Toxicol.* 12: 311-316.

Potts W.J., Lederer T.S. and Quast J.F. (1990). A study of the inhalation toxicity of smoke produced upon pyrolysis and combustion of polyethylene foams. Part.I. Laboratory studies *J. Combust. Toxicol.* 5: 408-433.

Programa Nacional para la Protección del Medio Ambiente 1990-1994. (1994). Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología, México D.F. pp 26, 27, 52, 53.

Quadri G (1994). *La Ciudad de México y la Contaminación Atmosférica.* Editorial Limusa. pp 45-65.

Rice F. (1990). Do you working a sick Building?. *Fortune.* 122 (1): 86-88

Rickert W.S., Robinson J.C. and Yong J.C. (1990). Estimating the hazard of "less bazarous" cigarettes. I nicotine, carbon monoxide, hydrogen cyanide, and total aldehyde deliveries of Canadian cigarettes. *J. Toxicol. Environ. Health* 6: 351-365.

Robbins S.L., Contran R. S. y Kuman V. (1992). *Manual de Patología estructural y funcional*, la. ed. Ed. Interamericana - Mc Graw - Hill España. pp 8, 9, 13, 14, 18, 27, 44, 213, 354.

Roemer E., Anton H.J. and Kindt R. (1993). Cell proliferation in the respiratory tract of the rat after acute inhalation of acrolein. *J. Appl. Toxicol.* 13: 103-107.

Sambke L. (1992). Is your house ... Healthy? Sick? *Family Circle.* 105(8): 72-76.

Schielke D.J. (1990). Gastrectomy following a rat caustic lesion. *Chirurg.* 58: 50-52.

Sprince H., Parker C.M. and Smith G.G. (1989). Comparison of protection by L-ascorbic acid, L- cysteine, and adrenergic-blocking agents against acetaldehyde acrolein, toxicity implications in smoking. *Agents Actions.* 9: 407-414.

Tortora J.G. y Anagnostakos P.N. (1989). *Principios de Anatomía y Fisiología Animal.* 5ª. ed. Harla. México. pp 936-951

Uría G.E. y Mora C.V. (1996). *Apuntes para el curso teórico-práctico de histología animal,* 1ª. ed., Instituto Politécnico Nacional, México D.F. pp 131-133

Vermeire J. (1992). Acrolein. *Environ. Health. Crit.* 127: 11-13.