

00381

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS



**EFFECTOS CROMOSOMICOS DEL TINER Y ALGUNOS
DE SUS PRINCIPALES COMPONENTES EN Vicia faba**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGIA)**

P R E S E N T A

SANDRA LUZ GOMEZ ARROYO

MEXICO, D. F.,

ENERO DE 1980

**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.

CONTENIDO

	PAG.
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODO	12
RESULTADOS	17
DISCUSION Y CONCLUSIONES	25
REFERENCIAS	37
TABLAS Y FIGURAS	51

RESUMEN

Se realizaron tratamientos con tñer y algunos de sus principales componentes como tolueno, benceno y n-hexano en los meristemas de la raíz de Vicia faba L. Los resultados obtenidos mostraron que todos esos solventes producen alteraciones cromosómicas que se observaron en células en anafase, como aberraciones (fragmentos sencillos y dobles y puentes sencillos y dobles), cromosomas retardados (con el centrómero inactivado e isocromosomas) y anormalidades en el huso mitótico (anafases multipolares). Así mismo, se registró la proporción de células en interfase con micronúcleos. Al evaluar el índice mitótico se encontró, en la mayoría de los casos, un efecto inhibitor.

INTRODUCCION

Los solventes industriales son usados en la elaboración de numerosos productos empleados, por sus propiedades físicas y químicas, en procesos específicos. La importancia que tienen ha provocado el desarrollo de una tecnología propia para obtenerlos al menor costo posible.

El término "solvente industrial" se refiere a los productos orgánicos líquidos de importancia comercial, generalmente insolubles en agua y con propiedades para disolver o dispersar sustancias orgánicas, naturales o sintéticas.

En la mayoría de los casos, el término "solvente", se refiere a sustancias utilizadas para disolver materiales resinosos en las industrias de adhesivos, recubrimientos orgánicos y tintas de impresión.

De acuerdo con la función concreta de cada compuesto, se clasifican en: solventes activos, co-solventes, solventes latentes y diluyentes.

Los solventes activos tienen como función disolver las sustancias, lo que permite determinar su viscosidad, el contenido de sólidos de la solución y la velocidad de evaporación del solvente al ser aplicado el producto en el que interviene. Estos solventes se usan principalmente en soluciones

de resinas.

Los co-solventes y los solventes latentes incrementan la capacidad de los activos, pero no son por sí mismos, solventes de las resinas. Sin embargo, cuando se usan combinados con un solvente activo, cada uno actúa efectivamente, aumenta el volumen de la mezcla sin pérdida del poder solvente e incrementa la tolerancia de los activos ante los diluyentes (Gutiérrez-Flores, 1975).

El tñner se usa en la industria de los recubrimientos orgánicos como si fuera solvente, ya que se le conoce como una mezcla balanceada de solventes activos, latentes y diluyentes. Es un ingrediente o componente de pinturas, lacas, barnices, tintas y productos semejantes cuya función principal es disminuir la viscosidad o dar una consistencia adecuada, controlar la velocidad de evaporación y abatir también los costos. En el comercio los tñneres se clasifican de acuerdo con su calidad en alta, media y baja, que significan alto, medio y bajo precio, que tienen en su composición, constituyentes que actúan como solventes latentes y diluyentes de alta, media o baja velocidad de evaporación, respectivamente (Gutiérrez-Flores, 1975).

Entre las sustancias utilizadas como solventes orgánicos, se pueden mencionar: 1. Los hidrocarburos alifáticos, que son derivados del pe-

tróleo. Como compuestos aislados los más empleados son el hexano y el heptano, aunque también se usan frecuentemente el queroseno, los es-píritus del petróleo y las naftas; todos ellos son compuestos no polares que se aplican como diluyentes. 2. Los hidrocarburos aromáticos, que son diluyentes no polares derivados del alquitrán de hulla y del petróleo; los más utilizados son el benceno, el tolueno y los xilenos; sus propieda-des son semejantes a las de los alifáticos, lo mismo que su aplicación. 3. Los hidrocarburos terpénicos, se obtienen principlamente por desti-lación de resinas naturales exudadas por las coníferas; son poco polares y tienen aplicaciones similares a las de los alifáticos y los aromáticos. 4. Los hidrocarburos clorados, que son productos petroquímicos utili-zados en la industria como adhesivos o para recubrimientos, son modera-damente polares. 5. Las cetonas, son productos petroquímicos, polares, que se utilizan como solventes activos de resinas vinílicas, acrílicas y éteres de celulosa, poseen un alto grado de dilución. 6. Los alcoholes, también son productos de la industria petroquímica, aunque el etanol pue-de obtenerse por fermentaciones; son compuestos polares, cuya propiedad de solventes latentes les da especial importancia en la industria de los recubrimientos orgánicos, en tanto que su aplicación en la industria de los adhesivos es mínima. 7. Los éteres, también productos petroquímicos; los más usados para recubrimientos en la industria son los éteres glicóli-cos, conocidos comercialmente como celosolves y carbitoles; son solventes

activos, polares de amplia gama de resinas naturales y sintéticas.

8. Los ésteres, que también proceden de la petroquímica, se emplean como solventes activos polares en la industria de los recubrimientos orgánicos (Gutiérrez-Flores, 1975).

En un grado mayor o menor, todos los solventes son tóxicos y las personas que los inhalan, involuntariamente o voluntariamente, pueden resultar afectadas (Gutiérrez-Flores, 1975).

Sin duda alguna el abuso de estos solventes, como inhalantes representa uno de los problemas más críticos de farmacodependencia, tanto por la peligrosidad de sus efectos sobre el organismo humano, como por la frecuencia con la que se manifiesta en nuestro medio (Torres-Ruiz, 1975).

En estudios de intoxicaciones accidentales con éter ocurridas en la industria (Andersen-Kaada, 1953), se ha descrito a este inhalante como de efecto narcótico, debido a que las personas no responden a los estímulos dolorosos y pierden la conciencia, cuadro similar al que se presenta con la anestesia quirúrgica. Este efecto es muy semejante al provocado por el éter, pues ambos producen hiperactividad, aumento de las respuestas a los estímulos ambientales, alucinaciones e incremento en la excitabilidad de la formación reticular. Estos cambios conductuales se asocian con el aumento de la actividad motora proporcional al incremento de la excitabilidad de la formación reticular; al continuar la inhalación se re-

ducen la actividad motora, así como la intensidad de las respuestas a los estímulos ambientales. En el caso del éter, al caer el individuo en un estado conductual semejante al sujeto dormido, es posible considerarlo como depresor del sistema nervioso central, en tanto que con el tñner, al continuar la inhalación, el individuo presenta un estado catatónico en el cual, a diferencia del estado anestésico, hay incrementos del tono muscular y de la actividad refleja somática. Simultáneamente aumenta la excitabilidad de la formación reticular hasta alcanzar niveles de saturación y en consecuencia se presentan crisis mioclónicas, por esto, es posible clasificar al tñner como estimulante del sistema nervioso central (Guzmán-Flores, 1975).

En estudios previos realizados en gatos (Guzmán-Flores, 1974), se demostró que el tñner actúa como estimulante del sistema nervioso central, produciendo como efectos inmediatos hipermotilidad, conducta alucinatoria, ataxia, catatonía y crisis mioclónicas; a partir de la desaparición de estos últimos efectos sobrevienen diversos automatismos durante los cuales no hay respuesta a los estímulos del medio ambiente.

En trabajadores expuestos a inhalaciones crónicas de disolventes que contienen tolueno (Korobkin et al., 1975; Cianchetti et al., 1976), se ha demostrado un adelgazamiento de la vaina de mielina con acumulación de filamentos y pérdida de axones, atrofia muscular, diversos grados de hipoestesia y debilidad.

Contreras et al. (1978) en experimentos realizados con ratas que habían inhalado diversas dosis de tolueno, encontraron que los animales presentan mioclonos después de una etapa de inquietud y pérdida del equilibrio alrededor del segundo minuto de inhalación, también se observó ataxia y salivación.

Según Torres-Ruiz (1975) la frecuencia en el uso de los diversos productos inhalables utilizados es el siguiente: cementos (73.2%), solventes comerciales (19.7%), cloruro de etilo (5.6%) y gasolina (1.4%). Los distintos tipos de cementos (tolueno, acetona, etc.) son los más utilizados; entre los solventes comerciales se hallan sustancias tales como los acetatos alifáticos, benceno, alcoholes, tetracloruro de carbono, etc. (Torres-Ruiz, 1975). Respecto al abuso del cloruro de etilo, se ha mencionado que la duración de sus efectos es casi efímera, pues no va más allá de escasos minutos (Pérez de Fracisco y Riquelme, 1973).

Los signos y síntomas más frecuentes en la intoxicación aguda por volátiles inhalables son: lenguaje incoherente, desorientación, excitación inicial, dificultad para la concentración, conducta errática, zumbido de oídos, estupor posterior a la excitación, midriasis, diplopia, irritación de las membranas mucosas (estornudos, tos, náuseas y diarrea), dificultad para la coordinación muscular, taquisfigmia (pulso rápido), delirio, alucinaciones, convulsiones, inconciencia y muerte (Torres-Ruiz, 1975).

En la tabla 1 se mencionan las alteraciones que producen los solventes orgánicos en los diferentes órganos y sistemas del hombre.

También se ha determinado el daño genético provocado por algunas de estas sustancias; Philip y Jensen (1970), en estudios realizados en tejidos hematopoiéticos del hombre y de animales de laboratorio, han demostrado que el benceno produce daños cromosómicos.

En cultivos de linfocitos de sangre periférica de trabajadores expuestos al benceno y al tolueno, se ha encontrado que el número de aberraciones estructurales (delecciones, inversiones pericéntricas, etc.) aumentan (Forni et al., 1971 a). Se han descrito anomalías cromosómicas estructurales y numéricas en pacientes con alteraciones de la sangre producidas por la exposición al benceno (Forni et al., 1971 b).

El benceno (Philip y Jensen, 1970) y el 7,12 dimetilbenzo(a)antraceno (Rees et al., 1970), aplicados subcutáneamente en ratas, producen rompimientos cromosómicos en las células de la médula ósea.

Se han registrado los efectos del etanol como inductor de alteraciones cromosómicas en Aspergillus nidulans (Harsanyi et al., 1977), de mutaciones letales en machos de Drosophila (Badr y Badr, 1973) y de aberraciones cromosómicas en células meristemáticas de la raíz de Vicia faba (Michaelis et al., 1959, 1962; Michaelis y Rieger, 1968) y en linfocitos hu-

manos in vitro (Bregman, 1971). Jones et al. (1973) describen malformaciones en hijos de madres alcohólicas .

Otros anestésicos volátiles, como el halotano, inducen mutaciones en Salmonella typhimurium, mediante activadores metabólicos (Baden et al. , 1976).

Algunos derivados del benceno, como el benzopireno, el benzofurano y el benzofluoranteno producen cáncer en la piel y en tejidos subcutáneos (Arcos y Argus, 1968).

Debido a que no es posible realizar con seres humanos la experimentación directa de los efectos tóxicos de los solventes y como es necesario conocer el comportamiento de este tipo de sustancias a nivel genético, se utilizan para ello sistemas más sencillos. Uno de los más adecuados lo constituye el haba (Vicia faba), debido a que sus cromosomas son pocos ($2n = 12$), grandes y fácilmente observables. Su caritipo normal está constituido por un par de cromosomas submetacéntricos en cuyos brazos cortos se presenta una constricción secundaria en la región del organizador nucleolar y 5 pares de cromosomas subacrocentricos. El promedio de duración del ciclo celular en la raíz principal es de 19.3 horas a 19°C (Evans y Scott, 1964).

Un aspecto importante en los estudios de citogenética son los efectos que las sustancias tienen sobre el ciclo celular; de acuerdo con Kihlman

(1966), cuando una sustancia induce aberraciones en los cromosomas que aparecen desde las 3 horas después de iniciado el tratamiento y presentan su mayor frecuencia entre las 4 y las 10 horas, se considera que no provoca retardo en la aparición de las aberraciones, en tanto que si el efecto se manifiesta después de 8 horas de haber sido aplicado el tratamiento y su mayor frecuencia se evidencia entre las 24 y las 48 horas, provoca un efecto retardado. Los agentes que no producen retardo inducen aberraciones en células que han completado su síntesis de ADN.

Se ha discutido la posibilidad de usar el lapso entre el inicio del tratamiento y la aparición de las aberraciones como un indicador de la sensibilidad de los diversos estados de la interfase, ya que posiblemente el retardo en la aparición de las aberraciones se debe al alargamiento de la duración del ciclo celular producido por los agentes químicos (Evans, 1963).

La división celular es afectada por sustancias que influyen notablemente sobre ciertas fases de la división como son: la entrada de las células en la división, la formación del huso funcional y la citocinesis (Kihlman, 1966).

Los agentes que impiden la entrada de las células en mitosis inhiben a las divisiones de la célula, del núcleo y de los cromosomas. El estado afectado es la interfase y en ocasiones la profase temprana, la cual se re-

vierte a la condición de interfase (D'Amato, 1949).

Según Kihlman et al. (1978) es posible reunir en dos grupos a los agentes físicos y químicos que inducen aberraciones en los cromosomas:

1. Agentes cuyos efectos son independientes del estado del ciclo en el que se encuentran las células sobre las que actúan.
2. Agentes que producen cambios que dependen del estado del ciclo en el que están las células que son afectadas.

En el primer grupo se encuentran los agentes alquilantes y la radiación ultravioleta (Bender et al., 1973) y dependen de la síntesis del ADN para que se exprese la aberración, mientras que el segundo grupo, al que pertenecen los rayos x, antibióticos, como la bleomicina, la pleomicina y la estreptonigrina y las oxipurinas metiladas producen las aberraciones independientemente de la síntesis del ADN (Kihlman, 1977).

El primer grupo de agentes únicamente produce alteraciones cromosómicas, independientemente del estado del ciclo en que se encuentran las células afectadas y su aparición requiere como se menciona en el párrafo anterior, la síntesis de ADN para que se exprese debido a un error en la replicación ("mis-replication", Evans, 1966) (Fig. 1).

El segundo grupo de agentes produce aberraciones subcromosómicas, cuando induce los cambios en profase y cuyo sustrato es la media cro-

mátida (Fig. 2); aberraciones cromatídicas, en las que funge como unidad la cromátida y se producen en S y G₂ (Fig. 3) y aberraciones cromosómicas, cuando el cromosoma es la unidad y se originan en G₁ (Fig. 4).

Las sustancias también tienen efectos sobre la región centromérica dando origen a los cromosomas retardados, los que pueden deberse a una inactivación (Fig. 5) del centrómero (Tomkins y Grant, 1972) o a su ruptura transversal (Fig. 6) formando isocromosomas (Nicoloff y Gecheff, 1975). Cualquiera que sea su origen estos cromosomas quedan fuera de la cinética normal de la anafase.

Debido a que en un grado mayor o menor todos los solventes son tóxicos y que no se conoce suficientemente el efecto que ellos producen sobre los cromosomas, se decidió investigar el comportamiento del tñer sobre los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba y como este solvente es una mezcla de varias sustancias entre otras el benceno, el tolueno y el n-hexano, estas serán probadas también en el sistema vegetal mencionado.

MATERIAL Y METODO.

Las semillas de haba* (Vicia faba var. major serie C-69-12) que se usaron en los experimentos fueron lavadas en agua corriente por 2 horas y dejadas en remojo durante 24 horas, con el fin de acelerar la germina-

* Se agradece el suministro al Departamento de Hortalizas de la Universidad Autónoma de Chapingo.

ción; posteriormente se pusieron a germinar entre dos capas de algodón humedecido con agua de la llave, a temperatura de 21°C y en la oscuridad. Al aparecer la radícula (entre el 4o. y 5o. día), se removió la testa para evitar la infección por hongos.

Las sustancias que se probaron fueron: tiner (PIMEX)*, benceno (Productos químicos Monterrey), tolueno (Merck) y n-hexano (Baker) y sus concentraciones, establecidas con base en experiencias previas considerando la toxicidad de cada una de ellas, fueron las siguientes: tiner: 0.03, 0.06, 0.12 y 0.24%; benceno: 0.10, 0.20, 0.30 y 0.50%; tolueno: 0.05, 0.10, 0.20, 0.30 y 0.50%; n-hexano: 0.10, 0.30, 0.50, 0.75 y 1.00%; con tratamientos de 1, 2 y 3 horas sin recuperación y de 4 horas con 2, 14, 18, 42 y 44 horas de recuperación. Esta selección también se hizo tomando en cuenta que Heiner (1971) indicó que gran parte de los errores que se cometen en el registro de las aberraciones está basada en el muestreo de las poblaciones celulares en momentos inapropiados.

Los tratamientos se efectuaron en la oscuridad, colocando las diversas sustancias en cristalizadores sobre los cuales se aplicaron tapas de papel aluminio con perforaciones por donde se introdujeron las raíces, de tal manera que estas quedaron en contacto con la solución. Cuando las sustan-

* Los resultados del estudio por cromatografía de gases realizado por CEMEF indican que los componentes del tiner utilizado son: tolueno (52.4%), n-hexano (25.6%), etanol (12.8%), acetato de etilo (6.0%), isopropanol (2.0%), benceno (1.2%) y n-heptano (1.2%).

cias se combinaron con el agua formaron mezclas heterogéneas, por tal motivo durante todo el tratamiento se mantuvieron en agitación constante con el objeto de homogeneizarlas y así exponer a todas las raíces a la misma concentración del solvente. Las raíces de los testigos se sumergieron en agua destilada agitada constantemente.

Al terminar el tratamiento, las plántulas fueron colocadas en un baño con agua corriente a temperatura (19°C) y aereación constantes, mediante un filtro de piso, durante 2, 14, 18, 42 y 44 horas para su recuperación (estos tiempos fueron elegidos con base en un experimento preliminar).

Las preparaciones de las puntas de las raíces fueron hechas modificando la técnica de Villalobos-Pietrini (1965). Se hicieron cortes de 2 mm de las puntas de las raíces y se colocaron en portaobjetos excavados que contenían HCl (Sigma) 5N, se hidrolizaron durante 10 min., después de lo cual se eliminó el exceso de ácido con papel absorbente; se agregaron unas gotas de acetorcefina* y se dejaron en esta solución durante 20 min.

A continuación se trasladaron a portaobjetos planos con unas gotas de ácido acético (Merck) al 45% ; rápidamente se colocaron sobre ellos cubreobjetos y se hizo presión con la goma de un lápiz ("squash"). Estas pre-

* Se elaboró mezclando 3 gr de orcefina sintética (Sigma) y 100 ml de ácido acético (Merck) al 70% ; se calentó a ebullición y a reflujo durante 2 horas; se dejó enfriar y se filtró.

paraciones se hicieron permanentes por medio de la técnica de Conger y Fairchild (1953), colocándolas sobre hielo seco durante algunos minutos y separando los cubreobjetos con un bisturf. Posteriormente se deshidrataron con dos cambios rápidos de butanol absoluto (Merck) y se montaron en bálsamo de Canadá (Merck).

Se analizaron aproximadamente 80 preparaciones por cada concentración, observándose todas las anafases para la detección de las alteraciones cromosómicas, y también se revisaron al azar 1000 células en interfase para cada tiempo de recuperación, con el objeto de determinar la presencia de micronúcleos.

Para todas las concentraciones y tiempos de recuperación, se observaron los testigos correspondientes.

Además se seleccionaron campos al azar para calcular el índice mitótico (I.M.) que se obtuvo de la siguiente manera:

$$I. M. = \frac{\text{Número de células en división}}{\text{Número total de células}}$$

Los índices mitóticos de cada sustancia y concentración fueron comparados con su testigo correspondiente, mediante una prueba de diferencia de proporciones (Spiegel, 1970), cuya fórmula es:

$$p = \frac{N_1 P_1 + N_2 P_2}{N_1 + N_2}$$

$$q = 1 - p$$

$$\sigma_{P_1 - P_2} = \sqrt{pq \left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} \right)}$$

$$z = \frac{P_1 - P_2}{\sigma_{P_1 - P_2}}$$

donde:

- N_1 = Total de células analizadas en el testigo
- N_2 = Total de células analizadas en cada concentración
- P_1 = Índice mitótico del testigo (expresado en %)
- P_2 = Índice mitótico de cada concentración (expresado en %)
- $\sigma_{P_1 - P_2}$ = Desviación estándar de los índices mitóticos
- z = Valor crítico
- p = Probabilidad de encontrar células en mitosis
- q = Probabilidad de encontrar células en interfase

Todas las concentraciones de las diversas sustancias fueron aplicadas en una serie de experimentos y después se hizo la repetición de cada uno de ellos.

RESULTADOS

La evaluación de los efectos de los solventes en los cromosomas de las células de la raíz de Vicia faba se hizo mediante el registro de alteraciones en anafase, como son los fragmentos sencillos y dobles (Fig. 7 A, B), los puentes subcromatídicos (Fig. 7 C), los puentes sencillos y dobles, con y sin fragmentos (Fig. 7 D, E), los cromosomas retardados (con el centrómero inactivado e isocromosomas) (Fig. 7 F, G) y las anafases multipolares (Fig. 7 K) y anomalías en células en interfase, como son los micronúcleos (Fig. 7 L).

En general, se observó una alteración por anafase, pero en ocasiones se presentó más de una (Fig. 7 H, I, J).

A continuación se analizarán por separado los resultados obtenidos con cada una de las sustancias.

1. TINER

Las aberraciones subcromatídicas (puentes subcromatídicos) aparecen en las primeras horas de tratamiento en 0.03% (tabla 2) y en 0.06% (tabla 3), y no se presentan en 0.12% (tabla 4).

En todas las concentraciones, las aberraciones cromatídicas (fragmentos y puentes sencillos) aparecen en las primeras horas de tratamiento (ta-

blas 2, 3 y 4) y se notan en casi todos los tiempos de tratamiento y recuperación con algunas excepciones.

Las aberraciones cromosómicas (fragmentos y puentes dobles) se advierten en los tratamientos de 4 horas a las 42 y 44 horas de recuperación en 0.03 y 0.06% (tablas 2 y 3) y a partir de las 18 horas en 0.12% (tabla 4).

Los cromosomas retardados, que están representados por los cromosomas con el centrómero inactivado y por los isocromosomas, también surgen en la primera hora de tratamiento en todos los casos (tablas 2, 3 y 4) y se presentan en todos los tiempos con una sola excepción (tabla 4).

En 0.03%, las anafases multipolares se observan únicamente en la primera hora (tabla 2) y en 0.06 y 0.12% en las dos primeras horas (tablas 3 y 4).

Los micronúcleos se manifiestan a partir de la primera hora en 0.03 y 0.06% (tablas 2 y 3) y de la segunda en 0.12% (tabla 4).

En la tabla 5 y en la figura 8 se muestran los resultados obtenidos con las diversas concentraciones de tñner, notándose que a medida que se incrementa la concentración, el total de anafases disminuye, hasta inhibirse completamente en 0.24%. Tanto las anafases anormales como las aberraciones totales, los cromosomas retardados y las anafases multipolares

aumentan conforme lo hacen las concentraciones, mientras que con los micronúcleos no se presentó esta situación (tabla 5).

2. TOLUENO

Las aberraciones subcromatídicas se presentan en todas las concentraciones en las dos primeras horas de tratamiento (tablas 6, 7 y 8).

Las aberraciones cromatídicas aparecen también a partir de la primera hora de tratamiento y con tratamientos de 4 horas, hasta las 42 horas de recuperación en 0.05% (tabla 6) y hasta las 44 horas en 0.10% (tabla 7), mientras que en 0.15% (tabla 8) no se presentaron a partir de las 18 horas de recuperación.

Las aberraciones cromosómicas en 0.05% solo se observan a las 44 horas y en 0.10% a las 42 y 44 horas (tablas 6 y 7).

Los cromosomas retardados se presentan en todos los tiempos de tratamiento y recuperación en 0.05 y 0.10% (tablas 6 y 7), en tanto que en 0.15% no se presentan en 4 horas de tratamiento y 2 horas de recuperación, a las 14 horas de recuperación solo hay isocromosomas y en los demás tiempos no se observan (tabla 8).

Las anafases multipolares en 0.05% se presentan únicamente con 4 horas de tratamiento y 44 horas de recuperación (tabla 6) y a concentraciones ma-

yores (0.10 y 0.15%) lo hacen en las tres o cuatro primeras horas (tablas 7 y 8).

Los micronúcleos se observan en 0.05 y 0.10% (tablas 6 y 7) en todos los tiempos de tratamiento y recuperación con una excepción (tabla 6), mientras que a 0.15% (tabla 8) solo se presentan en las dos primeras horas de tratamiento.

En la tabla 9 y en la Fig. 9 se incluyen los valores promedio de los resultados obtenidos con las diferentes concentraciones de tolueno, notándose que a medida que aumentan las concentraciones, disminuye el número de anafases, hasta abatirse completamente en 0.20% ; tanto las anafases anormales como las aberraciones totales y las anafases multipolares se incrementan conforme a la concentración; mientras que los cromosomas retardados sólo tienen un pequeño aumento y los micronúcleos no presentan ninguna relación con la concentración.

3. BENCENO

Las aberraciones subcromatídicas se presentan en las tres primeras horas de tratamiento en 0.10% (tabla 10), en las dos primeras en 0.20% (tabla 11) y solo en la primera en 0.30% (tabla 12).

Las aberraciones cromatídicas, en todos los casos, aparecen a partir de la primera hora (tablas 10, 11 y 12).

Las aberraciones cromosómicas se observan, en todos los casos, en 42 y 44 horas de recuperación (tablas 10, 11 y 12).

Los cromosomas retardados se presentan en todos los tiempos de tratamiento y recuperación, con algunas excepciones en 0.20 y 0.30% (tablas 10, 11 y 12).

Las anafases multipolares se notan en 0.10% en la primera y tercera horas de tratamiento (tabla 10), en 0.20% en las dos primeras (tabla 11) y en 0.30% en la tres primeras horas de tratamiento y en las dos horas de recuperación y cuatro de tratamiento (tabla 12).

Los micronúcleos surgen a partir de la primera hora de tratamiento, excepto en 0.20% que lo hacen en la segunda (tablas 10, 11 y 12).

La tabla 13 y la Fig. 10 muestran los resultados obtenidos con las diversas concentraciones de benceno, encontrándose el mayor número de anafases en 0.10%. Las anafases anormales, las aberraciones totales y las anafases multipolares muestran un aumento conforme lo hacen las concentraciones; en tanto que los cromosomas retardados y los micronúcleos no siguen este comportamiento.

4. n-HEXANO

Las aberraciones subcromatídicas no se presentan en 0.10% (tabla 14);

mientras que en 0.30% (tabla 15) y en 0.75% (tabla 17) se manifiestan en las dos primeras horas, y en 0.50% en la tercera hora (tabla 16).

Las aberraciones cromatídicas aparecen en la primera hora de tratamiento con 0.10% , en la segunda no lo hacen y a partir de la tercera sucede en todos los tiempos de recuperación (tabla 14); en 0.30% (tabla 15) surgen en la primera hora y se notan en todos los tiempos excepto en 42 horas; en 0.50% (tabla 16) se presentan de la primera hora de tratamiento hasta las 18 horas de recuperación; en 0.75% se muestran en todos los tiempos excepto a las 18 horas de recuperación (tabla 17).

Las aberraciones cromosómicas en 0.10 y 0.50% (tablas 14 y 16) aparecen a las 42 y 44 horas de recuperación y en 0.30 y 0.75% (tablas 15 y 17) solo a las 44 horas.

Los cromosomas retardados se observan en todas las concentraciones en la primera hora; en 0.10 y 0.30% no aparecen en la segunda hora (tablas 14 y 15) y tampoco lo hacen en 0.50% a las 18 horas de recuperación (tabla 16) y en 0.75% a las 2, 18, 42 y 44 horas de recuperación (tabla 17).

Las anafases multipolares en 0.10% se advierten en la tercera hora de tratamiento y en los tratamientos de 4 horas a las 2 y 42 horas de recuperación (tabla 14); en 0.30% se presentan a las 2 horas de tratamiento y en

los tratamientos de 4 horas a las 14, 18 y 42 horas de recuperación (tabla 15); en 0.50% a las dos primeras horas de tratamiento y con 4 horas de tratamiento y 2 de recuperación (tabla 16); en 0.75% a las tres primeras horas de tratamiento (tabla 17).

Los micronúcleos en 0.10% (tabla 14) aparecen en la primera hora y no se presentan a las 3 horas de tratamiento y a las 2, 14 y 44 horas de recuperación en los tratamientos de 4 horas; en 0.30% (tabla 15) también surgen en la primera hora y no se observan en los tratamientos de 4 horas de recuperación; en 0.50% (tabla 16) solo se presentan en 18 y 42 horas de recuperación y en 0.75% (tabla 17) únicamente en 2 y 44 horas de recuperación.

En la tabla 18 y en la Fig. 11 se resumen los datos de los resultados obtenidos con las diferentes concentraciones de n-hexano; observándose que a medida que se incrementa la concentración disminuye el total de anafases hasta abatirse completamente en 1.00%; solamente en el caso de las anafases multipolares se observa un incremento conforme lo hacen las concentraciones; en las anafases anormales, en las aberraciones totales y en los cromosomas retardados producidos por 0.75% se observan las mayores frecuencias, pero no se nota una relación con la concentración, esto mismo ocurre con los micronúcleos.

Otro parámetro que se evaluó para determinar el daño provocado por

las diversas sustancias es el índice mitótico (I. M.). En la tabla 19 y en la Fig. 12 se muestran los valores obtenidos para cada sustancia y concentración con su respectivos testigos; también se anota entre paréntesis la relación que existe entre el I. M. de la sustancia y del testigo, encontrándose que cuando es mayor el daño (es decir, cuando el I. M. es menor) el valor de esta relación está más alejado de la unidad.

En la Fig. 12 se grafican los valores obtenidos de los índices mitóticos, notándose una dispersión similar en el tolueno y en el tñer hasta concentraciones de 0.20 y 0.25% respectivamente. Una diferencia que se puede distinguir es el estímulo que el tñer produjo a 0.03%.

La distribución de valores para benceno y n-hexano es más amplia, cayendo totalmente a concentraciones de 0.50 y 1.00%, respectivamente.

En la tabla 20 se presentan los valores de \underline{z} obtenidos mediante la prueba de diferencia de proporciones, encontrándose que en el caso del tñer 0.03% el valor resultó significativamente diferente al del testigo, a un α de 0.05, posiblemente debido a un efecto estimulante; en todos los demás casos, excepto en tolueno 0.05% y en n-hexano 0.30% (en los cuales no hubo significatividad), se presentó un efecto inhibitor de la división celular provocado por los diferentes solventes.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Para evaluar los efectos que los agentes físicos y químicos producen a nivel cromosómico, es común observar a los cromosomas en los lapsos de la división celular en los cuales están más contraídos, o sea en metafase y anafase (Conger, 1965; Kihlman, 1975; Savage, 1975). En este trabajo se decidió hacer los registros de las aberraciones en células en anafase porque además en este estado es posible que aparezcan otros tipos de alteraciones que solo se pueden observar en ellas, como los cromosomas retardados, los cuales se producen cuando las regiones centroméricas son afectadas (Ramanna y Natarajan, 1966; Tomkins y Grant, 1972; Nicoloff y Gecheff, 1976), y los disturbios en la formación del huso acromático y en su funcionamiento que originan anafases multipolares.

Con el objeto de establecer la sensibilidad de las diversas etapas del ciclo celular y determinar si el agente utilizado provoca retardo en la duración del mismo, los tiempos de tratamiento y recuperación son factores importantes que se deben tomar en cuenta. También la rapidez con la que actúan los agentes es otro factor que suele considerarse al ser aplicados tratamientos cortos (1, 2 y 3 horas).

Las aberraciones de tipo subcromatídico, que se presentan con todas las concentraciones probadas de tolueno y benceno (tablas 6, 7, 8, 10, 11 y 12) y con casi todas las del tñner (tablas 2 y 3) y del n-hexano (tablas

14, 15, 16 y 17), son también inducidas como un intercambio subcromatídico tanto por radiaciones ionizantes como por otras sustancias químicas (Kihlman, 1966). Según Kihlman (1963), este tipo de daño debe observarse en metafase o anafase en las dos primeras horas de aplicado el tratamiento, lo cual coincide con los resultados de este trabajo, pero el hecho de que en algunos casos, tanto con el tñer (tabla 2), como con el benceno (tabla 10) y el n-hexano (tabla 16), hayan aparecido solo en la tercera hora, posiblemente implica que se ha producido un alargamiento de la duración de la profase, ya que según Evans y Scott (1964) ésta se efectúa en alrededor de una hora.

Las aberraciones de tipo cromatídico son inducidas durante S y G₂ y de acuerdo con Kihlman (1963, 1966), deberfan aparecer entre las 2 y las 14 horas de recuperación con el tipo de agentes que considera de efectos "no retardado". Como esta aberración surge a partir de la primera hora de tratamiento en todas las sustancias probadas, de acuerdo al criterio mencionado todos los solventes ensayados se comportarían como agentes de efecto "no retardado". Sin embargo, para este tipo de sustancias, Kihlman (1963, 1966) propone que las aberraciones de tipo cromosómico deben presentarse a las 14 horas de recuperación y con los solventes utilizados en este trabajo, se presentan a las 42 y 44 horas de recuperación, implicando un retardo en la duración del ciclo celular, lo que está de acuerdo con lo afirmado por Evans (1963) y Wolff (1963); aunque el retar

do que se obtiene en el caso de los solventes que se usaron, puede considerarse corto al compararse con el obtenido por Evans (1963) con la hidrazida málica en Vicia, que es mayor de 4 días.

Con los solventes usados, en tiempos de recuperación mayores de 18 horas, todavía se registran células con alteraciones cromatídicas mezcladas con células que presentan alteraciones cromosómicas. Esto puede deberse a un efecto producido en la parte final del período G_1 y en el inicio de la síntesis y debido al retardo del ciclo celular ambos tipos de aberraciones se presentan después de las 18 horas.

Evans et al. (1959), Van't Hof y Kovacs (1970) y Kovacs y Van't Hof (1971), han sugerido que la síntesis de proteínas es necesaria para que se efectúe el ciclo celular y que la inhibición de dicha síntesis es la causa del retardo mitótico. Existe suficiente evidencia del requerimiento de proteínas por las células para que la replicación del ADN se realice (Van't Hof, 1963; Baserga, 1968; Mueller, 1969).

Con radiaciones gamma, el retardo mitótico se produce en las porciones temprana y media (G_1 y S) de la interfase y dicho retardo es mucho mayor que el inducido en células que fueron irradiadas en la interfase tardía (G_2) (Evans et al., 1959).

En el caso de los solventes, el retardo posiblemente se efectuó en

todos los estados del ciclo, incluyendo a la profase, como se mencionó anteriormente.

Acerca de los dos tipos de agentes mencionados por Kihlman et al. (1978) y comentados en la introducción, es posible agregar que los agentes alquilantes (S-dependientes) reaccionan principalmente con las bases purínicas del ADN, aunque también forman fosfotriésteres; como resultado de reacciones secundarias la alquilación de las purinas resulta en rompimientos de banda sencilla del ADN. Otros agentes de ese grupo, la radiación ultravioleta produce dímeros de pirimidina que son también un tipo de daño a las bases nitrogenadas. Así, los rompimientos de banda sencilla y el daño a las bases, son las lesiones al ADN responsables de la producción de aberraciones en los cromosomas por los agentes del primer grupo mencionado.

También los agentes del segundo grupo provocan comunmente daños en las bases y rompimientos de banda sencilla, pero además de estas lesiones, se producen rompimientos de la doble banda del ADN. Por ejemplo, los rayos x producen estos dos tipos de rompimientos con una relación entre 10:1 y 20:1 (Leenhouts y Chadwick, 1974; Evans, 1977; Chadwick y Leenhouts, 1978).

Los solventes que se probaron en este trabajo pertenecen al segundo grupo de agentes cuyos efectos dependen del estado del ciclo en el que se

encontraban las células que fueron afectadas porque aparecen rompimientos subcromatídicos en la primera hora de tratamiento, rompimientos cromatídicos también desde la primera hora y rompimientos cromosómicos a partir de las 46 horas de iniciado el tratamiento, mostrando con ello que su expresión es S-independiente.

Los agentes que producen efectos retardados, o sea los del segundo grupo, se caracterizan por su incapacidad para producir aberraciones cromosómicas después de que se han completado las síntesis de ADN e histonas, lo que indica que actúan sobre los precursores cromosómicos más que sobre los cromosomas en sí mismos (Revel, 1952).

Todos los solventes probados producen un efecto directo e inmediato sobre el centrómero, que aparece desde las primeras horas y que se manifiesta por una inactivación del mismo (Tomkins y Grant, 1972) dando origen a los cromosomas con el centrómero inactivado, o bien provocan la división anormal del centrómero en sentido transversal, en vez de la longitudinal, formando los isocromosomas (Ramanna y Natarajan, 1966; Nicoloff y Gecheff, 1976). En ambos casos, los cromosomas afectados quedan fuera de la cinética normal de la anafase, ya que no se integran a los núcleos hijos y pueden dar como resultado micronúcleos y aneuploidías.

En este trabajo los cromosomas retardados no muestran una dependencia de las concentraciones de las diversas sustancias, excepto en el caso

del tñner (tablas 5, 9, 13 y 18).

En general, las frecuencias de aberraciones producidas fueron mayores que las de los cromosomas retardados, excepto en el caso del tñner (tabla 5), lo que puede deberse a que siendo una mezcla de varios solventes, probablemente alguno de los que no se probaron (acetato de etilo, isopropanol, etc.) sea responsable de ello, o bien que se produzcan por el efecto sinérgico entre algunos de sus componentes.

Los solventes también provocan alteraciones en el huso acromático. Mediante la luz polarizada, se observa que el huso es una estructura que tiene fibras de dos tipos: cromosómicas, que están unidas a los centrómeros y continuas, que corren de uno a otro polo de la célula (Bajer, 1961).

Mazia (1961) ha mostrado que el aparato mitótico puede ser descrito como un gel formado por la polimerización de las macromoléculas de proteínas que están involucradas en la formación del huso, éstas, aunque son pocas, constituyen una porción considerable del total de proteínas de la célula. Las proteínas del huso son ricas en azufre, cuya participación es importante en los enlaces S-S al formarse el huso. Otros constituyentes del huso son los polisacáridos, los lípidos y el ARN.

Según Levan y Östergren (1943) y Östergren (1944), el naftaleno y el benceno se asocian a porciones lipofílicas laterales de las proteínas del

huso y al inducir el plegamiento de la cadena polipeptídica provocan la transformación de las proteínas fibrosas a formas globulares que son incompatibles con su función normal en la anafase. Es posible que todos los solventes empleados en este trabajo actúen de manera semejante a la propuesta.

Malcolm (1968) considera que los solventes más liposolubles son al mismo tiempo los más tóxicos y es probable que su acción se realice a nivel de las membranas celulares en su capa lipídica.

Las alteraciones del huso traen como consecuencia la formación de anafases multipolares, integrándose más de los dos grupos normales de cromosomas, que en la telofase se presentan como núcleos separados. Con frecuencia estos núcleos son divididos por paredes celulares produciendo células con números menores del $2n$.

Las anafases multipolares producidas por todos los solventes tuvieron una clara dependencia de las concentraciones (tablas 5, 9, 13 y 18) y al compararse su frecuencia se notó que el benceno y el tolueno fueron los solventes más efectivos para producirlas.

Se ha descrito a la prueba de los micronúcleos como uno de los criterios para estimar el daño genético inducido tanto por agentes físicos, como químicos (Heddle, 1973; Schmid, 1973; Von Ledebur y Schmid, 1973).

Los micronúcleos son la manifestación en interfase de los fragmentos acéntricos (Read, 1959) y de los cromosomas retardados (Schmid, 1973). Generalmente la mayor contribución en la formación de los micronúcleos depende de las aberraciones, solo en el caso del tener los cromosomas retardados aportan la mayor frecuencia de alteraciones que se expresan posteriormente como micronúcleos.

Aunque con todos los solventes empleados, no se encontró ninguna relación entre la producción de micronúcleos y las diversas concentraciones usadas, pues en casi todos los casos su distribución fue asintótica, es posible usarlos como sensores en un criterio rápido para determinar si una sustancia produce daño cromosómico, al menos en las células de la raíz de Vicia faba.

La determinación del índice mitótico es un indicador del daño fisiológico que provoca un agente. Se ha demostrado que tanto los agentes físicos (Davidson, 1959, 1960; Evans et al., 1959; Haber y Foard, 1964; Burholt y Van't Hof, 1972) como los químicos (Kihlman, 1966; Kovacs y Van't Hof, 1971; Webster, 1973; McGill et al., 1974) producen inhibición de la división celular.

Los agentes químicos pueden influir principalmente en ciertas fases de la división celular, como son la inhibición de la entrada de las células

en la mitosis, la formación del huso funcional y la citocinesis (Kihlman, 1966). Los agentes que impiden la entrada de las células en la mitosis inhiben la división de la célula, del núcleo y de los cromosomas, así como la separación de las cromátidas, pero no necesariamente inhiben la replicación cromosómica (Kihlman, 1966).

Generalmente, el estado afectado de la célula es la interfase y en ocasiones la profase temprana, cuando esto sucede se produce una reversión de las células a la interfase (D'Amato, 1949). En la interfase los agentes pueden actuar en G_1 , S ó G_2 . Los que actúan en G_1 ó S podrán inhibir la replicación cromosómica así como la división de los cromosomas, mientras que los agentes que actúan principalmente en G_2 solamente afectarán a la separación de las cromátidas (Kihlman, 1966).

La inhibición de la síntesis de ADN provoca comúnmente la inhibición de la división celular (Edmunds, 1964). Entre los agentes que afectan al ADN o a su metabolismo, se encuentran los inhibidores de la síntesis y los precursores del ADN, así como los que modifican su estructura (Kihlman, 1966).

La división celular también puede ser detenida por la inhibición de la síntesis de proteínas. Se ha demostrado que el paso de las células de

G₂ a la mitosis requiere de esta síntesis (Webster y Van't Hof, 1970).

Los inhibidores de la respiración y de la fosforilación oxidativa impiden la mitosis, tanto en células de plantas (Amoore, 1961) como de animales (Epel, 1963).

Otra causa que puede provocar la disminución de la frecuencia de divisiones celulares es la producción de aberraciones cromosómicas, ya que algunas de ellas provocan la muerte celular (Davidson, 1959, 1960).

Con una excepción (0.03% de tñer, tabla 2), todos los solventes provocaron disminución en la frecuencia de la división celular con respecto al testigo. Esta inhibición probablemente fue causada por la muerte celular debida a las alteraciones cromosómicas, más que por algún efecto en las diferentes etapas de la interfase, puesto que los agentes que bloquean la síntesis de ADN y sus precursores tienen reacciones específicas, como en el caso de la azaserina, que bloquea la síntesis de purinas y pirimidinas (Handschumacher y Welch, 1960) y de los análogos de las bases nitrogenadas, como la adenina, la 2-6 diaminopurina (Kihlman, 1961), la aminopterina y la ametopterina (Biesele, 1954; Henderson, 1962), etc. también en los casos de aquellos agentes que modifican la estructura del ADN como son los alquilantes (Gelfant, 1963; Cassperson

et al., 1963; Scott y Evans, 1964) y los antibióticos, como la mitomicina C y la actinomicina D (Shiba et al., 1959); y de los que inhiben la síntesis de ARN y de proteínas tales como la puromicina y la cicloheximida (Webster y Van't Hof, 1970). Como las moléculas de los agentes que provocan este tipo de alteraciones son totalmente diferentes a las de los solventes, no sería correcto adjudicar, en principio, las mismas causas para la inhibición de la división celular. Aparentemente tampoco actúan a nivel de la supresión de la respiración como lo hacen el CO, los cianuros y las azidas (Amoore, 1961; Epel, 1963).

Por otro lado, se ha descrito que algunas sustancias como la fitohemaglutinina tienen un efecto estimulante de la división celular (acción mitogénica). Agrel (1966) y Zeck (1966) encontraron un efecto estimulante de esta sustancia en la división celular en protozoarios. Nowell (1960) sugiere que la acción de dicha sustancia sobre leucocitos no estimula directamente la mitosis, pero predispone la transformación de los monocitos y linfocitos maduros a un estado en el cual son capaces de dividirse; las células de la médula ósea y los blastos de leucemia, mostraron un aumento en la actividad mitótica en pocas horas. Se ha demostrado esta misma actividad mitogénica de la fitohemaglutinina en las células de regeneración de planarias (Romo, 1969).

También se ha descrito un efecto estimulante de las radiaciones ionizantes (rayos x) en el crecimiento de plantas (Skok et al., 1965). Este efecto ha sido explicado con relación a la elongación celular (Skok et al., 1965) y a un incremento de la tasa de división celular (Stein, 1958; Timofeev-Resovskii y Luchnik, 1959).

En este trabajo también se obtuvo un incremento de la división celular con 0.03% de tñer (tabla 20), este efecto estimulante probablemente se debió a la acción de alguno de los componentes del tñer no probados en esta ocasión (ya que todos los utilizados produjeron una inhibición de la división celular) o bien a su efecto sinérgico.

REFERENCIAS

- AGREL, I. P. S. (1966). Phytohaemagglutinin as a mitotic stimulator on free-living Amoebae. Exp. Cell Res. 42, 403-406.
- AMOORE, J. E. (1961). Dependence of mitosis and respiration in roots upon oxygen tension. Proc. R. Soc. B. 154, 109-129.
- ANDERSEN-KAADA, R. B. (1953). The electroencephalogram in poisoning by laquer thinner. Acta Pharmacol. Toxicol. 9, 125-130.
- ARCOS, C. J. y Argus, F. M. (1968). Molecular geometry and carcinogenic activity of aromatic compounds. New perspectives Adv. Cancer Res. 11, 305-471.
- BADEN, J. M., Brinkenhoff, M., Wharton, R. S., Hitt, B. A., Simmon, V. F. y Mazze, R. I. (1976). Mutagenicity of volatile anesthetics: halothane. Anesthesiology 45, 311-318.
- BADR, F. M. y Badr, R. S. (1973). Induction of dominant lethal mutation in male mice by ethyl alcohol. Mutat. Res. 21, 345.
- BAJER, A. (1961). A note on the behaviour of spindle fibers at mitosis. Chromosoma 12, 64-71.
- BARROSO-MOGUEL, R. (1975). Alteraciones morfológicas producidas por inhalantes. Cuadernos Científicos CEMEF 2, 97-106.

- BASERGA, R. (1968). Biochemistry of the cell cycle; a review. Cell Tissue Kinet. 1, 167-191.
- BENDER, M.A., Griggs, H.G. y Walker, P.L. (1973). Mechanisms of chromosomal aberration production. I. Aberration induction by ultraviolet light. Mutat. Res. 20, 387-402.
- BIESELE, J.J. (1958). Studies on mitosis in purine-treated tissue cultures. En: Frontiers in Cytology. L. Palay, Ed. Yale University Press, New Haven, Conn. pp. 84-112.
- BREGMAN, A.A. (1971). Cytogenetic effects of ethanol in human leukocyte cultures. EMS Newsletter 4, 35-36.
- BURHOLT, D.R. y Van't Hof, J. (1972). Cell population kinetics of Pisum root meristem cell during and after a mitotic inhibitory exposure to protracted gamma irradiation. Int. J. Radiat. Biol. 21, 307-319.
- CALDWELL, J.E., Quidzes, R.H., Porsche, J.D. y Fenger, F. (1945). Recent studies on yellow bone marrow extracts. Amer. J. Med. Sci. 209, 717.
- CASSPERSON, T., Farber, S., Foley, G.E. y Killander, D. (1963). Cytochemical observations on the nucleolus-ribosome system. Effects of actinomycin D and nitrogen mustard. Exp. Cell Res. 32, 529-552.

- CHADWICK, K.H. y Leenhouts, H.P. (1978). The rejoining of DNA double strand breaks and a model for the formation of chromosomal rearrangements. *Int. J. Radiat. Biol.* 33, 517-529.
- CIANCHETTI, C. Abbritti, G., Perticoni, G., Siracusa, A. y Curradi, F. (1976). Toxic polyneuropathy of shoe industry workers. A study of 122 cases. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 39, 1151-1161.
- CONGER, A.D. (1965). The fate of metaphase aberrations. *Radiat. Bot.* 5, 81-96.
- CONGER, A.D. y Fairchild, L.M. (1953). A quick-freeze method for making smear slides permanent. *Stain Technol.* 28, 281-283.
- CONTRERAS, C.M., González-Estrada, T., Zarabozo, D. y Fernández - Guardiola, A. (1978). Alteraciones electrocorticográficas, electromiográficas y conductuales producidas por la inhalación experimental de tolueno en la rata. *Cuadernos Científicos CEMESAM* 9, 27-40.
- D'AMATO, F. (1949). Prophase poisoning by chemical agents. *Caryologia* 1, 327-328.
- DAVIDSON, D. (1959). A method for estimating mitotic rates in Vicia roots after x irradiation. *Brit. J. Radiol.* 32, 612-614.
- DAVIDSON, D. (1960). Meristem initial cells in irradiated roots of Vicia faba. *Ann. Bot.* 24, 287-295.

- DURDEN, D.W. y Chipman, D.W. (1967). Gasoline sniffing complicated by acute carbon tetrachloride poisoning. Arch. Int. Med. 119, 371-374.
- EDMUNDS. L.N. (1964). Replication of DNA and cell division in synchronously dividing cultures of Euglena gracilis. Science 145, 266-268.
- EPEL, D. (1963). The effects of carbon monoxide inhibition of ATP level and the rate of mitosis in the sea urchin egg. J. Cell Biol. 17, 315-319.
- EVANS, H.J. (1963). Chromosome aberrations and target theory. En: Radiation-Induced Chromosome Aberrations. S. Wolff, Ed. Columbia University Press, Nueva York, pp. 8-40.
- EVANS, H.J. (1966). Repair and recovery from chromosome damage after fractionated x-ray dosage. En: Genetical Aspects of Radiosensitivity: Mechanisms of Repair. Int. Atomic Energy Agency, Vienna, pp. 31-48.
- EVANS, H.J. (1977). Molecular mechanisms in the induction of chromosome aberrations. En: D. Scott, B.A. Bridges and F.H. Sobels, Eds. Progress in Genetic Toxicology. Elsevier, Amsterdam, pp. 57-74.

- EVANS, H.J. y Scott, D. (1964). Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by x-rays and maleic hydrazide in Vicia faba. *Genetics* 49, 17-38.
- EVANS, H.J., Neary, G.J. y Tonkinson, S.M. (1959). The effect of oxygen on the induction by gamma radiation of mitotic delay in root tips of Vicia faba. *Exp. Cell Res.* 17, 144-159.
- FORNI, A., Pacifico, E. y Limonta, A. (1971a). Chromosome studies in workers exposed to benzene or toluene or both. *Arch. Environ. Health.* 22, 373-378.
- FORNI, A.M., Capellini, A., Pacifico, E. y Vigliani, E.C. (1971b). Chromosome changes and their evolution in subjects with past exposure to benzene. *Arch. Environ. Health* 23, 385-391.
- GELFANT, S. (1963). Inhibition of cell division: a critical and experimental analysis. *Int. Rev. Cytol.* 14, 1-39.
- GIRARD, R. y Revol, L. (1970). Frequency of benzene exposure in the course of acute hemopathies. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 10, 477-484.

- GRABSKI, D.A. (1961). Toluene sniffing producing cerebellar degeneration. *Amer. J. Psychiat.* 118, 461-462.
- GRANATI, A., Scavo, D. y Sereno, L. (1958). Il recambio protidico nella intossicazione benzolica sperimentale. *Fol. Med. Nap.* 41, 923.
- GUTIERREZ-FLORES, R.R. (1975). Solventes industriales. Cuadernos Científicos CEMEF 2, 35-48.
- GUZMAN-FLORES, C. (1974). Thinner: a stimulant or a depressant drug? Reported to the Committee of Problems of Drug Dependence. XXXVI Annual Scientific Meeting. México, D.F.
- GUZMAN-FLORES, C. (1975). Neurobiología del thinner: alteraciones conductuales producidas a largo plazo. Cuadernos Científicos CEMEF 2, 49-58.
- HABER, A.H. y Foard, D.E. (1964). Further studies of gamma-irradiated wheat and their relevance to use of mitotic inhibition for developmental studies. *Amer. J. Bot.* 51, 151-159.
- HANDSCHUMACHER, R.E. y Welch, A.D. (1960). Agents which influence nucleic acid metabolism. En: The Nucleic Acids, E. Chargaff and J.N. Davidson, Eds. Academic Press, Nueva York. Vol. III pp. 453-526.

- HARSANYI, Z., Grant, I.A. y Mackenzie, D.W.R. (1977). Genetic damage induced by ethyl alcohol in Aspergillus nidulans. Mutat. Res. 48, 51-74.
- HEDDLE, J.A. (1973). A rapid in vivo test for chromosomal damage. Mutat. Res. 18, 187-190.
- HEINER, R.E. (1971). Alterations in the nuclear cycle, mitotic index and chromosomes of Vicia as affected by diethyl sulfate. Mutat. Res. 12, 249-254.
- HENDERSON, J.F. (1962). Feedback inhibition of purine biosynthesis in ascites tumor cells. J. Biol. Chem. 237, 2631-2635.
- JONES, K.L., Smith, D.W. y Ulleland, C.N. (1973). Pattern of malformations in offspring of chronic alcoholic mothers. Lancet 1, 1267-1271.
- KIHLMAN, B.A. (1961). On the radiomimetic effect of adenine in Vicia faba. Exp. Cell Res. 25, 694-697.
- KIHLMAN, B.A. (1963). Relations to radiation-induced aberrations. En: Radiation-Induced Chromosome Aberrations, S. Wolff, Ed. Columbia University Press, Nueva York, pp. 100-122.
- KIHLMAN, B.A. (1966). Actions of Chemicals on Dividing Cells. Prentice Hall, Nueva Jersey.

- KIHLMAN, B.A. (1975). Root tips of Vicia faba for the study of the induction of chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 31, 401-412.
- KIHLMAN, B.A. (1977). Caffeine and Chromosomes. Elsevier, Amsterdam.
- KIHLMAN, B.A., Natarajan, A.T. y Anderson, H.C. (1978). Use of the 5-bromodeoxyuridine-labelling technique for exploring mechanisms involved in the formation of chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 52, 181-198.
- KOROBKIN, R., Asbury, A.K., Summer, N. y Nielsen, S.L. (1975). Glue sniffing neuropathy. *Arch. Neurol.* 32, 158-162.
- KOVACS, C.J. y Van't Hof, J. (1971). Mitotic delay and the regulating events of plant cell proliferation; DNA replication by a G₁/S population. *Radiat. Res.* 48, 95-106.
- LEENHOUTS, H.P. y Chadwich, K.H. (1974). Radiation induced DNA double strand breaks and chromosome aberrations. *Theor. Appl. Genet.* 44, 167-172.
- LEVAN, A. y Östergren, G. (1943). The mechanism of C-mitotic action. Observations on the naphthalene series. *Hereditas* 29, 381-443.
- MALCOLM, A.I. (1968). Solvent-sniffing and its effects. *Addictions* 15, 12-21.

- MAZIA, D. (1961). Mitosis and the physiology cell division. En: The Cell, J. Brachet and A.E. Mirsky, Eds. Vol.3, Academic Press, Nueva York, pp. 77-412.
- McCORD, C.P., Cox, N. y Boyle, C. (1932). New investigation of the toxicity of benzene and impurities. Ind. Hlth. Cons. Labs. Cincinnati.
- KOPPENHÖFER, G.F. (1935). Morphologische und chemische Ultersuchugen bei einem Fall einer tödlichen akuten Benzolvergiftung. Arch. Gewerbepathol. Gewerbehyg. 6, 417.
- McGill, M., Pathak, S. y Hsu, T.C. (1974). Effects of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: a possible material basis for chromosome stickness. Chromosoma 47, 157-167.
- MICHAELIS, A., Ramshorn, K. y Rieger, R. (1959). Äthylalkohol-radiomimetisches Agens bei Vicia faba L. Naturwiss. 46, 381-382.
- MICHAELIS, A., Nicoloff, H. y Rieger, R. (1962). Influences of EDTA on the induction of chromatid aberrations by triethylenemelanine and ethyl alcohol. Biochem. Biophys. Res. Commun. 9, 280-284.
- MICHAELIS, A. y Rieger, R. (1968). On the distribution between chromosomes of chemically induced chromatid aberrations: studies with a new karyotype of Vicia faba. Mutat. Res. 6, 81-92.

- MUELLER, G.C. (1969). Biochemical events in the animal cell cycle. Fed. Proc. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol. 28, 1780-1789.
- NICOLOFF, H. y Gecheff, K. (1976). Methods of scoring induced chromosome structural changes in barley. Mutat. Res. 34, 233-244.
- NOWEL, C.P. (1960). Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. Cancer Res. 20, 462-466.
- ÖSTERGREN, G. (1944). Colchicine, mitosis, chromosome contraction, narcosis and protein chain folding. Hereditas 30, 429-467.
- PATERNI, L. (1958). Emopatia de idrocarburi benzenici. Rass. Med. Ind. 27, 337.
- PEREZ DE FRANCISCO, C. y Riquelme, G.E. (1973). Drogadicción por inhalantes. Rev. Latinoam. Psicol. 5, 41-47.
- PHILIP, P. y Jensen, M.K. (1970). Benzene induced chromosome abnormalities in rat bone marrow cells. Acta Path. Microbiol. Scand. 78, 489-490.
- RAMANNA, M.S. y Natarajan, A.T. (1966). Chromosome breakage induced by alkyl-alkane-sulfonates under different physical treatment conditions. Chromosoma 18, 44-59.

- READ, J. (1959). Mitosis, and the inhibition of mitosis by radiations. En: Radition Biology of Vicia faba in Relation to the General Problem. Blackwell Scientific Publications. Oxford, pp. 48-69.
- REES, E.D., Majumdar, S.K. y Shuck, A. (1970). Changes in chromosomes of bone marrow after intravenous injections of 7,12-dimethylbenz(a)-anthracene and related compounds. Proc. Nat. Acad. Sci. 66, 1228-1235.
- REVELL, S.H. (1952). En: Symposium on Chromosome Breakage. Oliver and Boyd, Londres y Edinburgo.
- ROMO, R.P. (1969). Acción de la fitohemaglutinina en la regulación de la planaria Dugesia dorotocephala. Tesis, Fac. de Ciencias, UNAM, México.
- SAVAGE, J.R.K. (1975). Radiation-induced chromosomal aberrations in the plant Tradescantia; dose-response curves. I. Preliminary considerations. Radiat. Bot. 15, 87-140.
- SCHMID, W. (1973). Chemical mutagen testing on in vivo somatic mammalian cells. Agents and Actions 3, 77-85.
- SCOTT, D. y Evans, H.J. (1964). On the non-requirement for DNA synthesis in the production of chromosome aberrations by 8-ethoxycaffeine. Mutat. Res. 1, 146-156.
- SELLING, L. (1916). Benzol as leucotaxin. Johns Hopkins Hosp. Rep. 17, 83.

- SHIBA, S., Terawaki, A., Taguchi, T. y Kawamata, J. (1959). Selective inhibition of formation of deoxyribonucleic acid in Escherichia coli by mitomycin C. Nature 183, 1056-1057.
- SKOK, J., Chorney, W. y Rakosnik, E.J. (1965). An examination of stimulatory effects of ionizing radiation in plants. Radiat. Bot. 5, 281-292.
- SPIEGEL, M.R. (1970). Estadística. Serie de Compendios Schaum. McGraw-Hill. México, pp. 168-171.
- STEIN, O.L. (1958). The effects of chronic and acute exposures of ionizing radiations on Kalanchot "Brilliant Star". Proc. Minn. Acad. Sci. 25, 59-68.
- TIMOFEEV-RESOVSKII, N.V. y Luchnik, N.V. (1959). Stimulation of plants by radiation and its possible theoretical interpretation. Proc. All-Union Sci. Tech. Cont. App. Radioact. Isotopes. Moscú, pp. 233-239.
- TOMKINS, D.J. y Grant, W.F. (1972). Comparative cytological effects of the pesticides menazon, metabromuron and tetrachloroisophthalonitrile in Hordeum and Tradescantia. Can. J. Genet. Cytol. 14, 245-256.

- TORRES-RUIZ, A. (1975). Manifestaciones clínicas en los usuarios y/o abusadores de volátiles inhalables. Cuadernos Científicos CEMEF 2, 73-84.
- VAN 'T HOF, J. (1963). DNA, RNA and protein synthesis in the mitotic cycle of pea root meristem cells. *Cytologia* 28, 30-35.
- VAN 'T HOF, J. y Kovacs, C.J. (1970). Mitotic delay in two biochemically different Q_1 cell populations in cultured roots of pea (*Pisum sativum*). *Radiat. Res.* 44, 700-712.
- VIGLIANI, E.C. (1976). Leukemia associated with benzene exposure. *Ann. NY Acad. Sci.* 271, 143-151.
- VIGLIANI, E.C. y Forni, A. (1976). Benzene and leukemia. *Environ. Res.* 11, 122-127.
- VILLALOBOS-PIETRINI, R. (1965). Alteraciones inducidas por los rayos x en los cromosomas de la raíz de *Vicia faba*. I. Aspectos técnicos. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 29, 178-183.
- VON LEDEBUR, M. y Schmid, W. (1973). The micronucleus test methodological aspects. *Mutat. Res.* 19, 109-117.
- WEBSTER, P.L. (1973). Effects of cycloheximide on mitosis in *Vicia faba* root-meristem cells. *Exp. Bot.* 21, 239-244.

- WEBSTER, P.L. y Van't Hof, J. (1970). Initiation of DNA synthesis and mitosis in stationary, transitional and proliferative phase meristems: requirements for RNA and protein synthesis. *Amer. J. Bot.* 57, 130-139.
- WOLFF, S. (1963). En: Radiation-induced Chromosome Aberrations. S. Wolff, Ed. Columbia University Press, Nueva York, pp.111-112.
- ZECK, L. (1966). The effect of phytohemagglutinin on growth and DNA synthesis in some protozoa. *Exp. Cell Res.* 44, 312-320.

TABLA 1
EFEITOS FISIOLÓGICOS PROVOCADOS POR ALGUNOS SOLVENTES ORGÁNICOS

Tejido, órgano o sistema	Solvente	Síntomas y signos	Referencia
Médula ósea	Benceno	Anemia aplásica	Selling, 1916
Riñones	Benceno	Nefritis	McCord <u>et al.</u> , 1932
Intestino y estómago	Benceno	Hemorragias petequiales	Koppenhofer, 1935
Piel, riñones, cerebro, pleura, mucosas, ureteres y vejiga	Benceno	Hemorragias puntiformes, hiperhemia	Koppenhofer, 1935
Sanguíneo	Benceno	Anemia, trombocitopenia, leucopoesis, granulocitopenia	Cadwell <u>et al.</u> , 1945
Glándulas supra-renales	Benceno	Incremento en la liberación de hormonas de la corteza	Paterni, 1958
Hígado	Benceno	Lesiones parenquimatosas parecidas a la hepatitis, necrosis en pequeñas áreas	Granati <u>et al.</u> , 1958
Sanguíneo	Benceno	Hemopatías	Girard y Revol, 1970
Aparato respiratorio	Benceno	Congestión pulmonar, edema del epitelio alveolar y del intersticio, enfisema	Barroso-Moguel, 1975
Testículos	Benceno	Retardo y disminución de la espermatogénesis	Barroso-Moguel, 1975
Sanguíneo	Benceno	Leucemia	Vigliani, 1976; Vigliani y Forni, 1976
Hígado	Tolueno	Hepatomegalia, insuficiencia hepática	Grabski, 1961
Nervioso central	Tolueno	Alteraciones cerebelosas	Grabski, 1961
Nervioso central	Metanol	Lesiones visuales, ceguera	Barroso-Moguel, 1975
Intestino	Metanol	Hemorragias en la mucosa	Barroso-Moguel, 1975
Sanguíneo	Gasolina	Anemia hemolítica, púrpura, trombocitopenia	Durden y Chipman, 1976
Páncreas e hígado	Tetracloruro de carbono	Necrosis e inflamación aguda	Durden y Chipman, 1967

TABLA 2

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE *Vicia faba* INDUCIDAS POR TINER 0.03% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Fragmentos		% Puentes*			% Cromosomas retardados		% Anafases multipolares	% Micronúcleos **
					sen-cillos	dobles	subcromatídeos	sen-cillos	dobles	centro-meros inactivados	isocromosomas		
1	0	1857	1.46	0.51	0.26	0	0.05	0.21	0	0.21	0.53	0.31	0.30
2	0	1394	0.96	0	0	0		0.25	0	0.51	0	0	0.30
3	0	1470	0.87	0.25	0.18	0	0.07	0	0	0.62	0	0	1.00
4	2	1694	2.16	1.10	0	0	0	1.10	0	0.50	0.60	0	0.20
4	14	2508	0.86	0.55	0	0	0	0.50	0	0.11	0.63	0	0.50
4	18	3129	0.60	0.43	0.22	0	0	0.30	0	0.21	0.15	0	0.40
4	42	3040	0.71	0.30	0	0.07	0	0.16	0.05	0.14	0.60	0	1.00
4	44	2491	0.54	0.10	0	0	0	0.25	0.05	0.40	0.28	0	0.45

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 3

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR TINER 0,06% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Fragmentos sencillos		% Puentes* sencillos		% Cromosomas retardados		% Anafases multipolares	% Micronúcleos**	
									centro	isocromosomas			
									inactivado				
1	0	434	4.44	1.00	0.52	0	0	0.54	0	1.91	1.34	1.12	1.20
2	0	728	3.61	0.64	0.18	0	0.18	0.28	0	3.02	0.45	0.10	1.40
3	0	815	3.00	2.10	1.49	0	0	0.56	0	2.31	0.43	0	1.10
4	2	607	2.61	1.78	0.94	0	0	0.83	0	0.83	0.27	0	1.20
4	14	1094	3.65	1.55	0.90	0	0	0.65	0	2.20	0.53	0	1.65
4	18	1468	2.20	0.66	0.23	0	0	0.42	0	1.37	0.51	0	1.80
4	42	1544	1.18	0.88	0.34	0.10	0	0.10	0.16	0.16	0.59	0	1.50
4	44	1116	2.26	0.98	0	0.24	0	0.38	0.36	1.33	0.57	0	2.90

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 4

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR TINER 0.12% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	% Fragmentos sen- dobles		subcro- matidi- cos	% Puentes* sen- dobles		% Cromosomas retardados centro- mero- inac- tivado		% Anafa- ses multi- polares	% Micro- nú- cleos **
1	0	86	6.42	2.37	2.37	0	0	0	0	2.70	0	2.37	0
2	0	297	2.72	0.18	0	0	0	0.18	0	1.88	0.18	2.35	0.80
3	0	179	3.86	0.91	0.28	0	0	0.62	0	2.39	1.13	0	0.55
4	2	94	0.57	0.57	0.57	0	0	0	0	0	0	0	0.55
4	14	453	3.00	0.82	0.28	0	0	0.55	0	2.48	0.57	0	0.60
4	18	1758	5.00	2.25	0.44	0.24	0	0.92	0.21	2.87	1.10	0	1.75
4	42	1229	5.00	2.10	0.51	0.74	0	0.60	0.13	2.54	1.49	0	1.70
4	44	1235	1.75	0.73	0.12	0	0	0	0.30	1.32	0.24	0	1.30

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 5

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR TINER EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba

Concentración (%)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Cromosomas retardados	% Anafases multipolares	% Micronúcleos
0.03	17583	1.02	0.40	0.78	0.04	0.52
0.05	7806	2.86	1.20	2.23	0.15	1.39
0.12	5331	3.54	1.37	2.61	0.60	0.90
0.24	N O H U B O F I G U R A S M I T O T I C A S					

TABLA 6

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR TOLUENO 0.05% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	%	%	% Fragmentos		% Puentes*			% Cromosomas retardados		%	%
			Anafases anormales	Aberraciones totales	sen-cillos	dobles	subcromatídicos	sen-cillos	dobles	centro-mero inactivado	isocromosomas	Anafases multipolares	Micronúcleos **
1	0	708	1.78	1.13	0.35	0	0.28	0.49	0	0.67	0.79	0	0.45
2	0	824	1.63	1.86	1.63	0	0.12	0.12	0	0.33	0.36	0	0.70
3	0	1129	2.00	0.55	0.30	0	0	0.30	0	0.80	1.16	0	0.70
4	2	919	1.50	0.90	0.24	0	0	0.66	0	0.85	0.34	0	0.50
4	14	1188	0.58	0.70	0.26	0	0	0.43	0	0.10	0.10	0	0
4	18	1938	0.93	0.56	0.14	0	0	0.41	0	0.29	0.10	0	0.50
4	42	929	0.45	0.22	0.10	0	0	0.13	0	0.13	0.10	0	0.30
4	44	2072	0.53	0.47	0	0.11	0	0	0.25	0	0.20	0.14	0.50

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 7

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR TOLUENO 0.10% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	%	%	% Fragmentos		% Puentes*			% Cromosomas retardados		% Ana- fases multi- polares	% Micro- nú- cleos **
			anafases anormales	Aberracio- nes totales	sen- cillos	dobles	subcro- matí- cos	sen- cillos	dobles	centro- mero inac- tivado	isocro- moso- mas		
1	0	664	1.45	0.43	0.28	0	0.14	0	0	0.28	0.14	0.73	0.10
2	0	939	2.76	1.78	0.11	0	0.32	1.37	0	0.43	0.75	0.11	1.00
3	0	438	3.20	0.67	0.46	0	0	0.20	0	0.46	1.77	1.27	0.90
4	2	343	0.88	0.90	0.20	0	0	0.70	0	0.20	0	0	0.40
4	14	113	1.88	1.77	0.44	0	0	1.32	0	0.55	0	0	0.80
4	18	222	4.23	3.84	0	0	0	3.84	0	0	0.38	0	0.80
4	42	851	0.76	0.41	0.10	0.10	0	0.12	0.18	0.10	0.41	0	1.80
4	44	654	1.00	0.53	0	0.15	0	0.23	0.15	0	0.61	0	1.40

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 8

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR TOLUENO 0.15% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Fragmentos		% Puentes*			% Cromosomas retardados		% Anafases multipolares	% Micronúcleos **
					sen-cillos	dobles	subcromatídicos	sen-cillos	dobles	centro-mero inactivado	isocromosomas		
1	0	227	2.35	1.65	0.41	0	1.24	0	0	0.93	0	1.23	0.20
2	0	196	15.45	4.55	0.45	0	0.45	3.60	0	3.63	2.27	7.27	0.20
3	0	147	7.27	7.48	0	0	0	6.81	0	0.55	0	1.61	0
4	2	166	4.76	5.38	1.21	0	0	4.16	0	0	0	0.61	0
4	14	107	4.72	3.83	0.98	0	0	2.85	0	0	0.89	0	0
4	18	191	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	42	78	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	44	82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 9

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR TOLUENO EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba

Concentración (%)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Cromosomas retardados	% Anafases multipolares	% Micronúcleos
0.05	9707	1.17	0.80	0.80	0.02	0.46
0.10	4224	2.00	1.30	0.80	0.30	0.90
0.15	1194	4.32	2.86	1.00	1.34	0.10
0.20	N O	H U B O	F I G U R A S	M I T O T I C A S		

TÁBLA 10

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR BENCENO 0.10% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	% Fragmentos sen- cillos	% dobles	subcro- matídi- cos	% Puentes* sen- cillos	% dobles	Cromosomas retardados centro- mero inac- tivado	% isocro- moso- mas	% Anafases multi- polares	% Micro- nú- cleos **
1	0	1317	2.55	2.60	0.60	0	0.10	2.00	0	0.68	0.84	0.36	0.55
2	0	850	1.86	1.03	0.44	0	0.31	0.50	0	0.44	0.98	0	0.85
3	0	720	2.20	1.07	0.64	0	0.15	0.28	0	0.32	0.76	0.30	0.70
4	2	1021	2.11	1.93	0.80	0	0	1.13	0	0.30	0.66	0	0.30
4	14	1295	1.13	0.61	0.15	0	0	0.23	0	0.62	0.39	0	1.00
4	18	1425	0.65	0.13	0.05	0	0	0.10	0	0.60	0.25	0	1.55
4	42	1257	0.44	0.19	0	0	0	0	0.19	0.13	0.25	0	0.25
4	44	568	1.11	0.27	0	0.28	0	0	0	0.56	0.56	0	1.80

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 11

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR BENCENO 0,70 % A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	Fragmentos sen- cillos	dobles	subcro- matí- cos	Puentes* sen- cillos	dobles	Cromosomas retardados centro- mero- inac- tivado	isocro- moso- mas	Anafa- ses multi- polares	% Micro- nú- cleos **
1	0	270	8.47	10.35	1.14	0	2.00	7.19	0	0.56	0.34	0.80	0
2	0	565	5.50	3.12	0.38	0	0.98	1.75	0	0.76	0.38	7.00	1.00
3	0	650	1.00	0	0	0	0	0	0	0.63	0.37	0	0.70
4	2	219	0.86	0.29	0	0	0	0.29	0	0.29	0.29	0	1.00
4	14	204	1.45	1.19	0	0	0	1.19	0	0	0.26	0	0.70
4	18	401	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.10
4	42	516	2.10	1.73	0	0.11	0	0.11	1.50	0.34	0.11	0	1.15
4	44	265	1.53	1.53	0	0	0	0	1.53	0	0	0	0.50

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 12

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR BENCENO 0.30% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Fragmentos sencillos		% Puentes* subcromatídicos sencillos			% Cromosomas retardados centro-isocromosomáticos		% Anafases multipolares	% Micronúcleos **
1	0	403	36.11	15.55	2.00	0	8.08	5.60	0	3.70	0.84	19.99	0.65
2	0	927	4.90	1.20	0	0	0	0.89	0	1.62	1.31	1.64	0.70
3	0	654	1.10	0.48	0.84	0	0	0.59	0	0.25	0.64	0.20	0.65
4	2	383	2.93	0.56	0	0	0	0.34	0	0.59	0.66	0.91	0.10
4	14	533	0.78	0.95	0.24	0	0	0.72	0	0	0.10	0	0.90
4	18	922	2.43	1.47	0.51	0	0	1.10	0	0.74	0.95	0	1.20
4	42	491	0.77	0.77	0	0.77	0	0	0	0	0	0	0.25
4	44	250	6.00	4.40	0.40	1.20	0	1.20	1.60	1.20	1.20	0	1.35

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 13

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR BENCENO EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba

Concentración %	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Cromosomas retardados	% Anafases multipolares	% Micronúcleos
0.10	8453	1.50	0.98	1.04	0.03	0.88
0.20	3090	2.61	2.27	0.54	0.98	0.80
0.30	4563	6.87	3.17	1.72	2.89	0.72
0.50	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS					

TABLA 14

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEXANO 0.10% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	%	%	%		%			%		%	%
			Anafases anormales	Aberracio- nes totales	Fragmentos sen- cillos	dobles	subcro- matidi- cos	sen- cillos	dobles	Cromosomas retardados centro- mero inac- tivado	isocro- moso- mas	Anafa- ses multi- polares	Micro- nú- cleos **
1	0	820	0.81	0.28	0.21	0	0	0.10	0	0.10	0.49	0	0.20
2	0	398	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20
3	0	915	0.69	0.30	0	0	0	0.30	0	0.25	0.13	0.10	0
4	2	1108	1.00	0.55	0.48	0	0	0.10	0	0.11	0.16	0.11	0
4	14	964	0.94	0.94	0.81	0	0	0.14	0	0.22	0.10	0	0.80
4	18	1457	0.63	0.25	0.10	0	0	0.19	0	0.23	0.13	0	0.30
4	42	1350	0.83	0.64	0	0.22	0	0	0.42	0.23	0.10	0.10	0.20
4	44	2031	0.13	0.40	0	0.10	0	0.11	0.21	0	0.11	0	0

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 15

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEXANO 0.30% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Fragmentos sencillos	% Fragmentos dobles	subcromatídeos	% Puentes* sencillos	% Puentes* dobles	% Cromosomas retardados centro-mero-inactivado	% isocromosomas	% Anafases multipolares	% Micronúcleos **
1	0	805	1.28	0.80	0.40	0	0.32	0.16	0	0.83	0.52	0	0.30
2	0	627	0.94	0.20	0	0	0.10	0.10	0	0	0	0.14	0.30
3	0	993	0.90	0.38	0.12	0	0	0.25	0	0.50	0.39	0	0.40
4	2	555	0.35	0.60	0.50	0	0	0.10	0	0.30	0	0	0
4	14	2517	0.66	0.61	0.17	0	0	0.44	0	0.10	0.10	0.10	0.70
4	18	1204	1.00	0.66	0.16	0	0	0.49	0	0.10	0.25	0.10	0.90
4	42	760	0.26	0	0	0	0	0	0	0.24	0	0.14	0.20
4	44	1249	0.20	0.10	0	0.10	0	0	0	0	0.10	0	0

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 16

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEXANO 0.50% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Fragmentos sencillos	% Fragmentos dobles	subcromatídeos	% Puentes* sencillos	% Puentes* dobles	% Cromosomas retardados centro isocromosomacéntricos	% Anafases multipolares	% Micronúcleos**	
1	0	1056	0.53	0.13	0	0	0	0.13	0	0.27	0	0.13	0
2	0	1154	0.48	0.10	0.19	0	0	0	0	0.38	0	0.17	0
3	0	1177	1.52	1.43	0.97	0	0.17	0.43	0	0.28	0.17	0	0
4	2	370	1.11	0.60	0	0	0	0.60	0	0	0.24	0.27	0
4	14	1188	0.52	0.20	0	0	0	0.20	0	0.10	0.27	0	0
4	18	1321	0.25	0.25	0.10	0	0	0.19	0	0	0	0	0.40
4	42	663	0.20	0.10	0	0.10	0	0	0	0.10	0	0	0.10
4	44	1295	0.21	0.22	0	0.10	0	0	0.12	0	0.10	0	0

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 17

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEXANO 0.75% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	%	%	%	% Puentes*			% Cromosomas retardados		%	%	
			Anafases anormales	Aberracio- nes totales	Fragmentos sen- cillos	sen- dobles	subcro- matídi- cos	sen- cillos	dobles	centro- mero inac- tivado	isocro- moso- mas	Anafa- ses multi- polares	Micro- nú- cleos **
1	0	213	7.20	8.25	2.90	0	1.70	3.37	0	2.54	0.56	0.84	0
2	0	153	4.24	3.30	0	0	1.41	1.88	0	0	0.47	0.47	0.40
3	0	175	1.26	0.77	0	0	0	0.77	0	0	0	0.55	0
4	2	147	4.55	6.04	0	0	0	6.13	0	0	0	0	0.30
4	14	642	3.15	3.95	0.25	0	0	3.67	0	0.17	0.25	0	0
4	18	340	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	42	260	5.17	5.17	1.72	0	0	1.72	0	0	0	0	0
4	44	168	0.63	0.63	0.31	0.31	0	0	0	0	0	0	0

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 18

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR n-HEXANO EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba

Concentración (%)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Cromosomas retardados	% Anafases multipolares	% Micronúcleos
0.10	9211	0.63	0.42	0.30	0.04	0.20
0.30	8710	0.70	0.42	0.43	0.06	0.40
0.50	8224	0.60	0.38	0.24	0.07	0.10
0.75	2098	3.30	3.50	0.50	0.23	0.11
1.00	N O H U B O F I G U R A S M I T O T I C A S					

TABLA 19

INDICES MITOTICOS (I.M.) OBTENIDOS CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE TINER, TOLUENO, BENCENO Y n-HEXANO EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE Vicia faba

SUSTANCIA	0	0.03	0.05	0.06	0.10	0.12	0.15	0.20	0.24	0.30	0.50	0.75	1.00
TINER	26.42	30.85 (1.17)		21.65 (0.82)		18.29 (0.69)			0 -				
TOLUENO	26.70		26.93 (1.01)		24.56 (0.92)		16.70 (0.63)	0 -					
BENCENO	22.36				19.87 (0.89)			15.03 (0.67)		16.20 (0.72)	0 -		
n - HEXANO	30.14				26.65 (0.88)					29.00 (0.96)	28.69 (0.95)	10.86 (0.36)	0 -

() Relación $\frac{\text{I.M. SUSTANCIA}}{\text{I.M. TESTIGO}}$

TABLA 20

VALORES DE z DE LAS DIFERENCIAS DE PROPORCIONES EN LOS INDICES MITOTICOS EXPRESADOS EN LA TABLA 19

SUSTANCIA	0.03	C O 0.05	N 0.06	C E 0.10	N 0.12	T R 0.15	A C 0.20	I 0.30	O N 0.50	% 0.75
TINER	-9.65		10.86		18.88					
TOLUENO		-0.51*		4.79		23.39				
BENCENO				5.46			16.82	13.96		
n - HEXANO				6.92				2.23**	2.89	42.75

* z ($\alpha = 0.05$) = ± 1.96 , $P > 0.05$

** z ($\alpha = 0.01$) = ± 2.53 , $0.05 < P > 0.01$

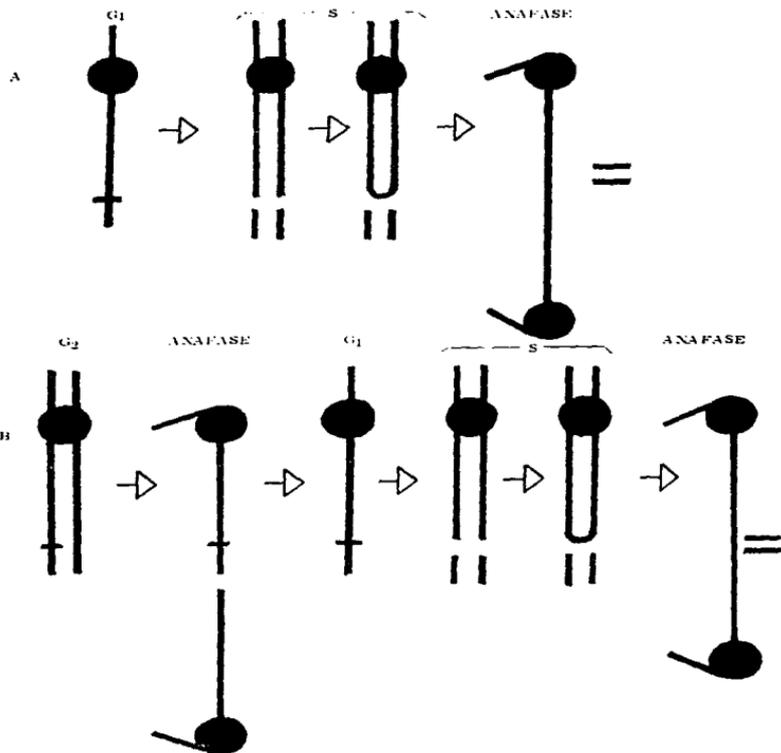


FIG. 1. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS INDUCIDAS POR UN EXCESSO DE EXPRESIÓN DEPENDIENDO DE LAS SÍNTESIS DE ADN. (A) UNO Y (B) DOS GENES 5' G₂

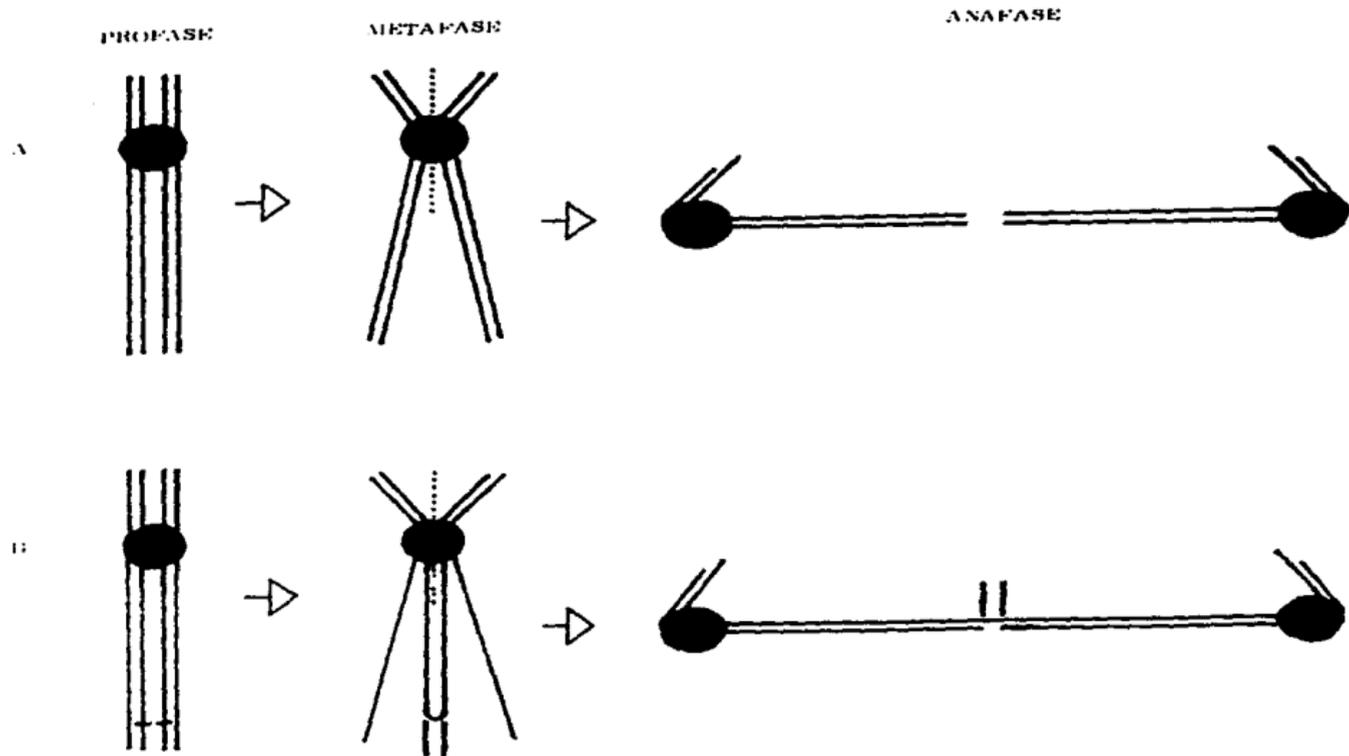


Fig. 2. ABERRACIONES SINCROLYTICAS INDUCIDAS POR AGENTES CUYA EXPRESION ES INDEPENDIENTE DE LA SINTESIS DEL ADN. A. NORMAL. B. ALTERADO.

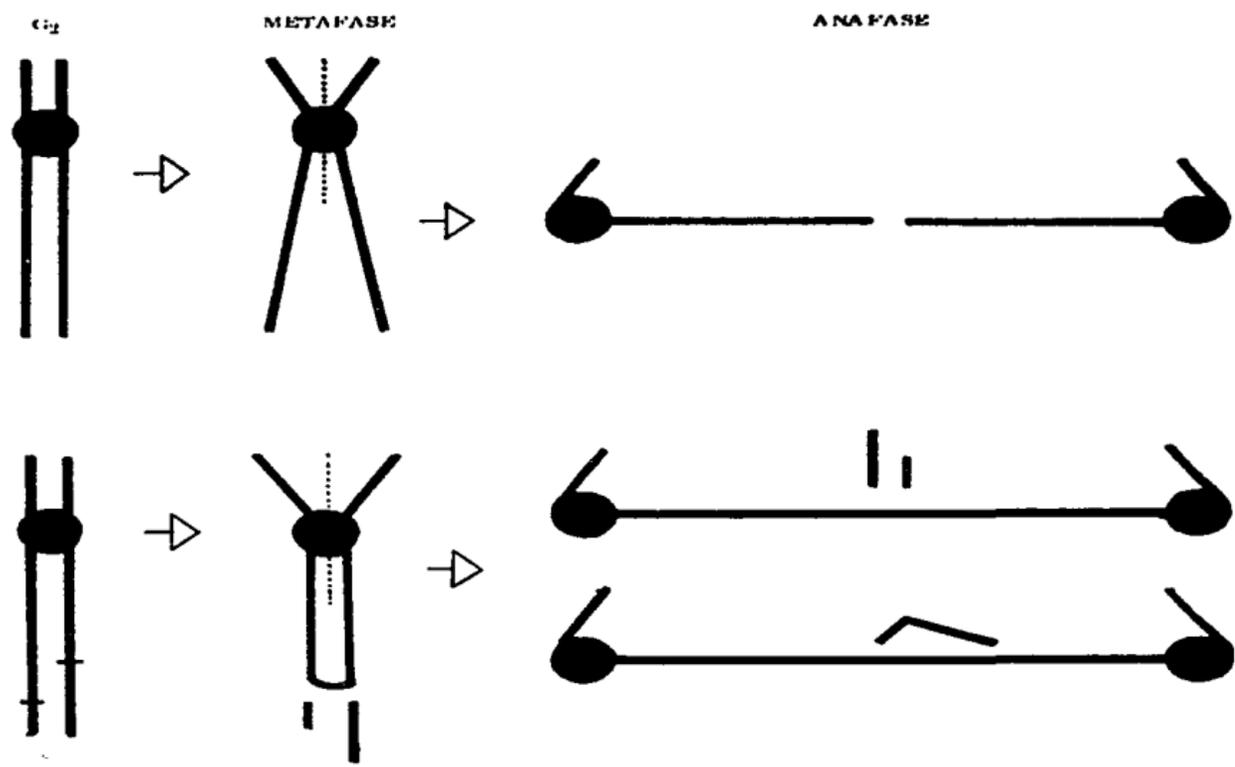


FIG. 3. ABERRACIONES CROMATIDICAS INDUCIDAS EN *S. 6 C₁₂* POR AGENTES CUYA EXPRESION ES INDEPENDIENTE DE LA SINTESIS DEL ADN. A. NORMAL. Y B. ALTERADO.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

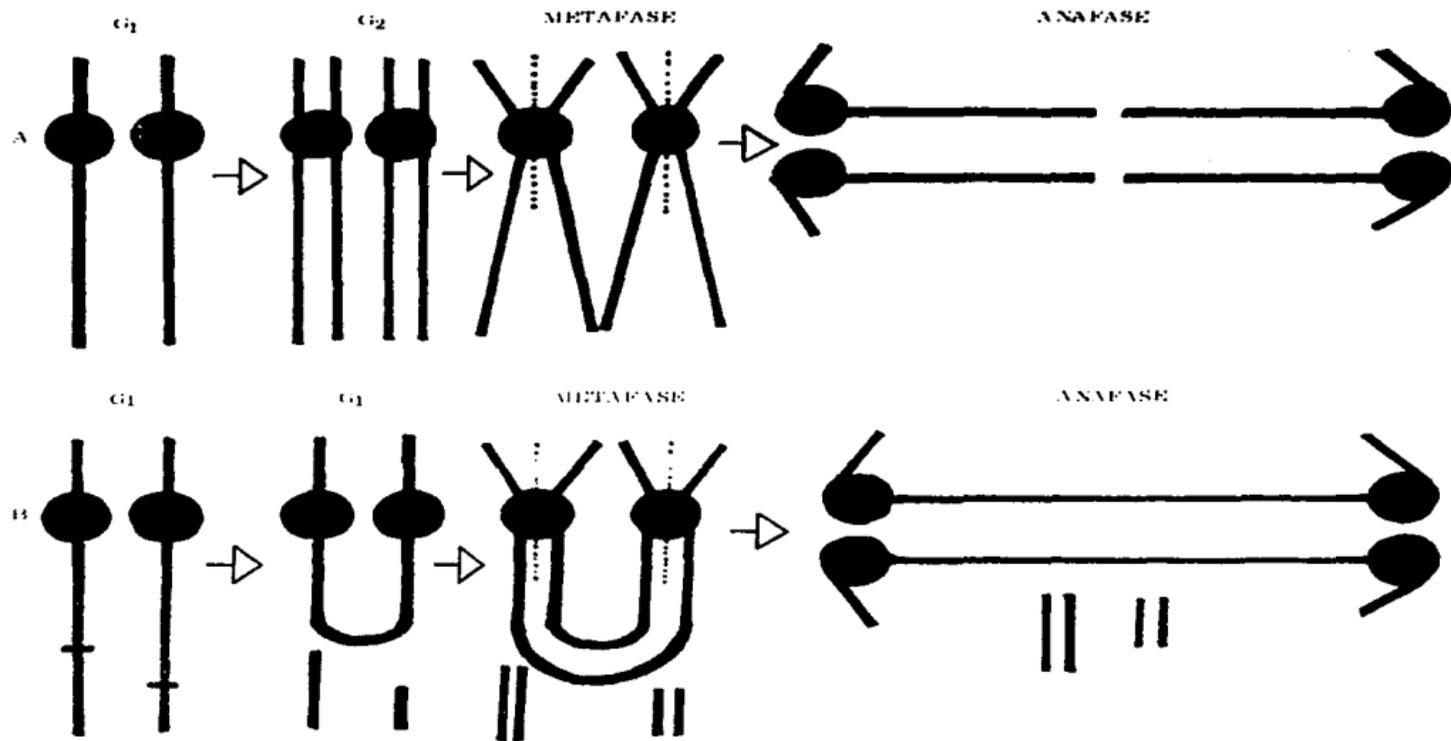


FIG. 4 ABERRACIONES CROMOSOMICAS INDUCIDAS EN G₁ POR AGENTES CUYA EXPRESION ES INDEPENDIENTE DE LA SINTESIS DEL ADN. A. NORMAL Y B. ALTERADO.

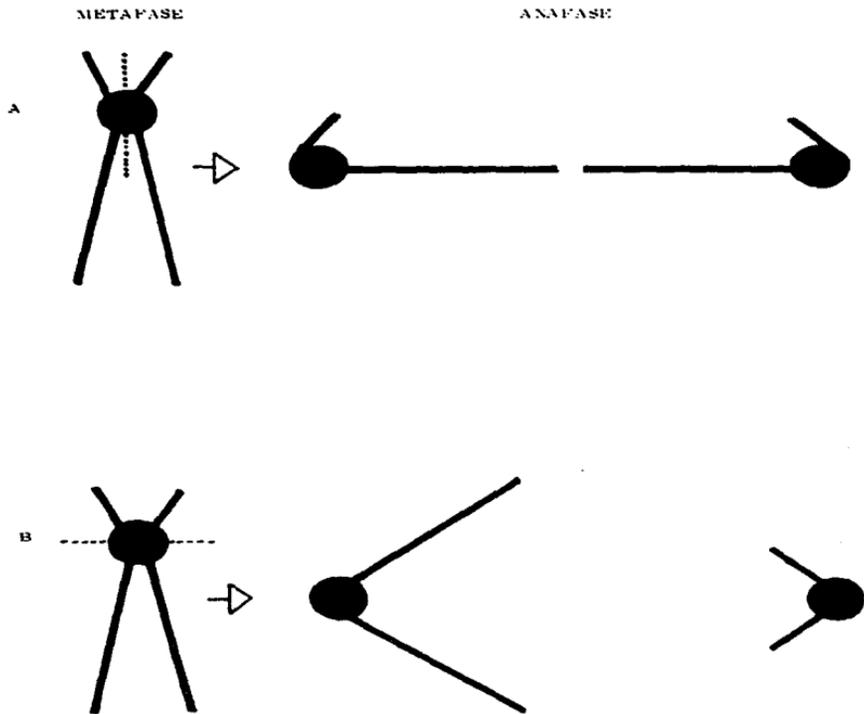


Fig. 6 FORMACION DE ISOCROMOSOMAS. A. NORMAL, Y B. ALTERADO.

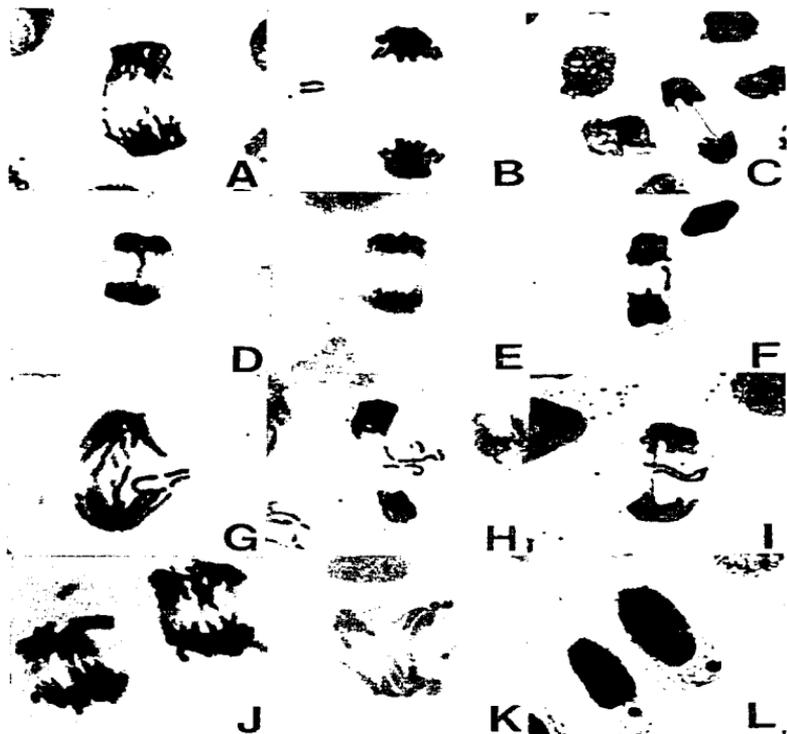


Fig. 7. Alteraciones en los cromosomas de Vicia faba producidas por ibuprofeno, tolueno, benceno y n-hexano. A-K, células en anafase; L, células en interfase: A, fragmento sencillo; B, fragmento doble; C, puente subcromatídico; D, puente sencillo; E, puente doble; F, cromosoma con el centrómero inactivado; G, isocromosoma; H, 2 isocromosomas; I, puente sencillo y 2 cromosomas con el centrómero inactivado; J, puentes múltiples; K, anafase multipolar; L, micronúcleos.

Fig. 8
FRECUENCIA DE ALTERACIONES (- TESTIGO) INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES
DE TINTER EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba

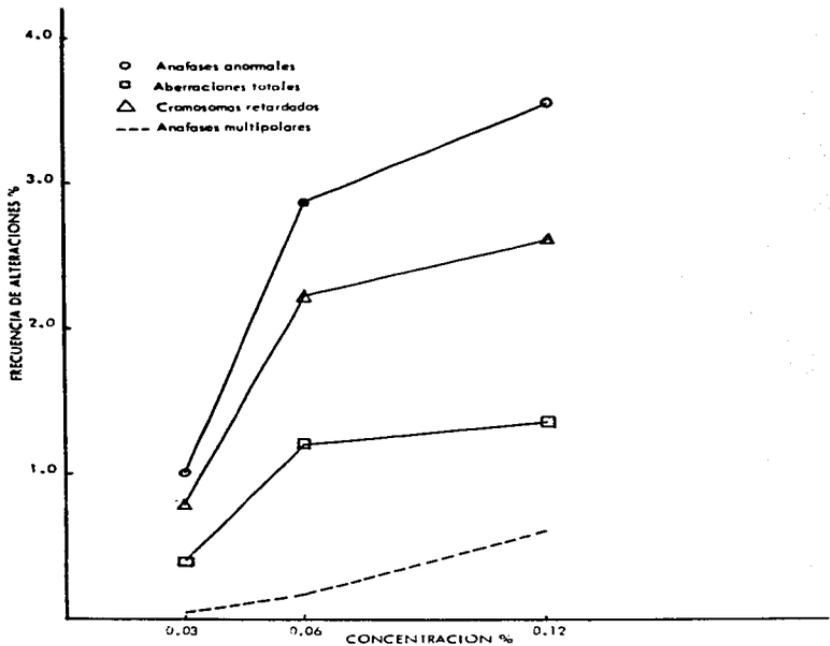


Fig. 9
FRECUENCIA DE ALTERACIONES (- TESTIGO) INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES
DE TOLUENO EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba

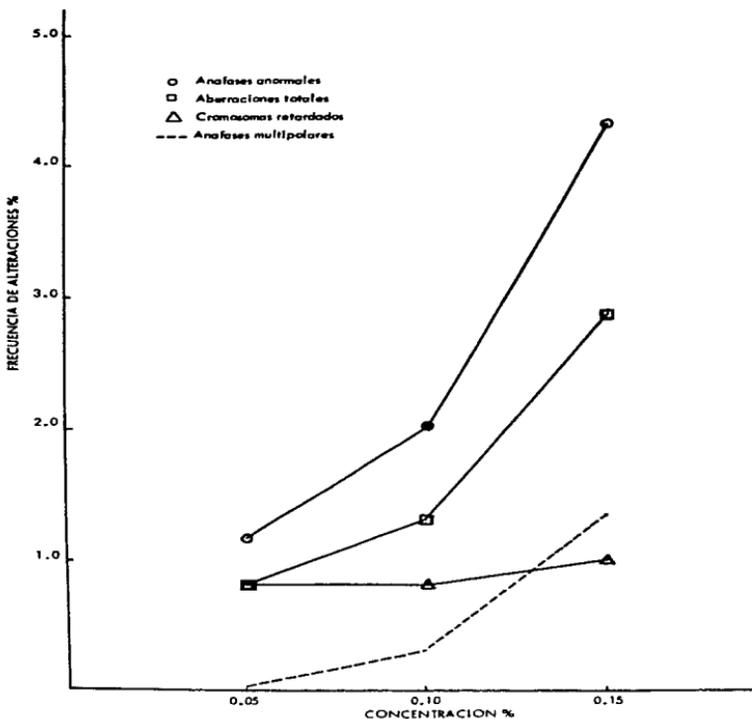


Fig. 10
FRECUENCIA DE ALTERACIONES (= TESTIGO) INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES
DE BENCENO EN LOS CROMOSOMAS DE *Vicia faba*

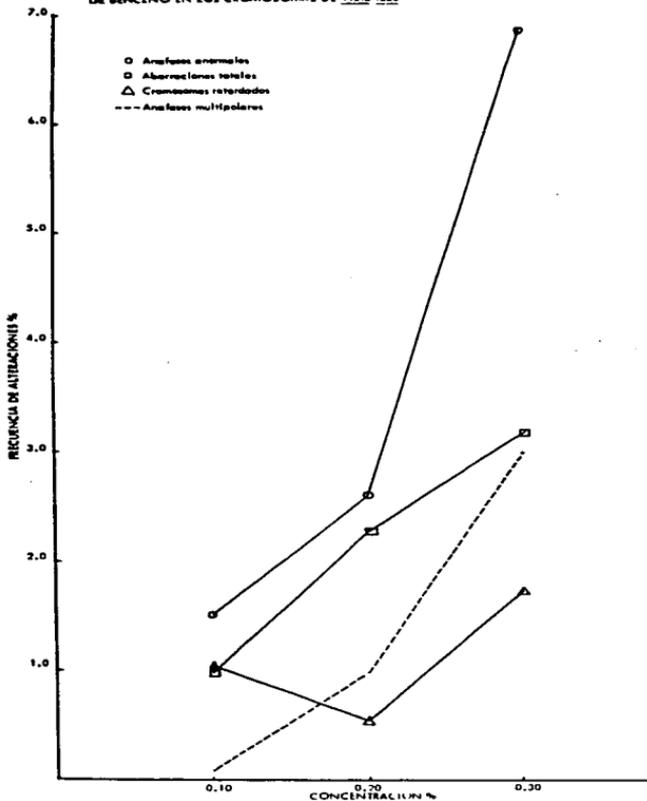


Fig. 11
FRECUENCIA DE ALTERACIONES (- TESTIGO) INDUCIDAS POR VARIAS
CONCENTRACIONES DE n-HEXANO EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba

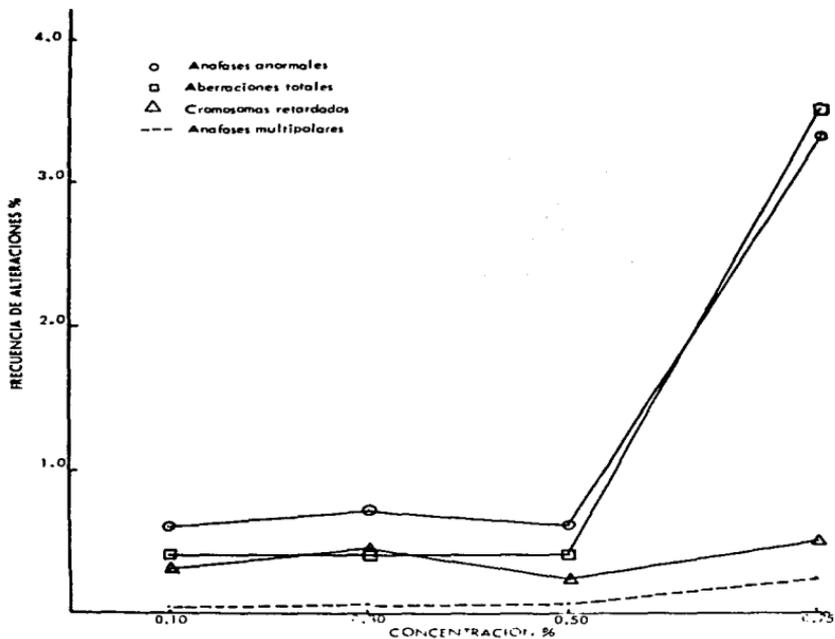


Fig. 12
INDICE MITOTICO EN LAS CELULAS DE LA RAIZ DE Vicia faba
TRATADAS CON VARIOS SOLVENTES

