

16  
29.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
ZARAGOZA



INDUCCION DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS POR ALGUNAS  
SALES DE ARSENICO EN LOS CROMOSOMAS DE LAS CELULAS  
MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE Vicia faba (UN ESTUDIO  
EN EL LABORATORIO E in situ)

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
B I O L O G O  
P R E S E N T A  
MARIA GUADALUPE MONSALVO VAZQUEZ

El presente trabajo se llevó a cabo en el  
Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis  
Ambientales del Centro de Ciencias de la  
Atmósfera de la Universidad Nacional  
Autónoma de México bajo la dirección de la  
Dra. Sandra Gómez Arroyo.



## **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 está 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	16
DISCUCION Y CONCLUSIONES	19
REFERENCIAS	30
TABLAS Y FIGURAS	50

## RESUMEN

En este trabajo se evaluó el efecto del arsénico en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba, mediante el análisis de alteraciones cromosómicas en anafase.

Se probaron el arseniato de sodio (0.0001, 0.001 y 0.01 M) y el arsenito de potasio (0.000001, 0.00001 y 0.0001 M). Obteniéndose en los dos casos incremento de la frecuencia de alteraciones cromosómicas, tales como fragmentos sencillos y dobles; puentes subcromatídicos, sencillos y dobles; cromosomas con el centrómero inactivado; isocromosomas y anafases multipolares, siendo ésta mayor para el arsenito que para el arseniato.

También, se registró la presencia de micronúcleos en células en inter fase.

Además, se observó disminución de la división celular, la cual fue mas drástica en las concentraciones altas de arseniato de sodio (pentavalente) que para el arsenito de potasio (trivalente).

Se realizó un estudio con el agua de pozo contaminada con arsénico del Poblado El Cantabro en Torreón Coahuila. Se determinó que la cantidad de arsénico presente es de 0.3 ppm. En este caso también se notó aumento de inducción de alteraciones cromosómicas.

## INTRODUCCION

Cada vez se emplea mayor número de elementos para la elaboración de gran cantidad de sustancias, además de las ya existentes, que se utilizan en la fabricación de nuevos productos de uso doméstico, industrial, agrícola, médico, etc., sin que muchas de las veces se tenga idea de sus efectos en el ambiente y en especial sobre el hombre. Continuamente se presentan la necesidad de evaluar el peligro que éstas representan, ya que involucran agentes tales como pesticidas, solventes, metales y metaloides como es el caso del arsénico (Fishbein, 1979) que ocasiona serios problemas en la salud humana e incluso riesgo genético.

El arsénico es un metaloide que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, ya que ha existido en la tierra durante todo el período de evolución, la mayor parte del cual ha estado como arseniuros metálicos altamente insolubles. Sin embargo, con el desarrollo tecnológico se logra una transformación de las formas estables a las solubles de arseniato/arsenito (Luh et al., 1973; McCabe et al., 1983), por lo cual su presencia en el ámbito puede ser tanto natural como antropogénica. Se encuentra libre o combinado en una amplia variedad de minerales siendo la forma más común la pentavalente (arsenato), aunque en algunos casos también se encuentra la trivalente (arsenito) asumiendo los estados de oxidación de +5 y +3 respectivamente (NAS, 1977).

Es dispersado en los depósitos naturales, principalmente como trióxidos de arsénico, y está relacionado con el medio a través de los procesos industriales, durante la fundición de metales ya que forma aleaciones con varios elementos metálicos, tales como los que contienen plomo, cobre, oro, plata y cinc (Ehlers, 1974; Blot y Fraumeni, 1975; Crecelius et al., 1975; Cordier et al., 1983).

También, es liberado durante las actividades mineras (Klumpp y Peterson, 1979); en la combustión del carbón (Duck y Himus, 1951; Headlee y Hunter, 1953; Lindberg et al., 1975); en la elaboración del cemento (Förstner y Wittman, 1981); de pinturas, productos químicos y en el procesamiento del

vidrio (Axelson, 1980; Dang et al., 1983).

Además, los compuestos arsenicales también son dispersados al medio durante su uso en la agricultura como pesticidas, fungicidas, herbicidas, insecticidas, defoliantes, en la maduración de cítricos, en el control de hierbas acuáticas, en la fabricación y uso de preservativos de la madera, como esterilizante edáfico y en los alimentos para incrementar el crecimiento y peso de aves de corral y del ganado (Crafts y Rosenfels, 1939; Cunningham et al., 1952; Liebig et al., 1959; Kunze, 1966; Byron et al., 1967; Miles, 1968; Wagner y Weswig, 1974; Mc Donald et al., 1975; Savory y Fedor, 1977; Kharab y Singh, 1985).

se le considera como un elemento ubicuo, ya que se ha determinado su presencia en el aire, suelo, agua dulce, océano y en todos los seres vivos, encontrándose desde concentraciones menores de 1 parte por millón (ppm) hasta cientos de ppm, siendo el valor promedio en la corteza terrestre de 2 ppm (Wells y Elliott, 1971; Wullstein y Snyder, 1971).

En aguas naturales es frecuente debido a la lixiviación de las rocas superficiales y volcánicas. Las aguas superficiales habitualmente tienen bajos contenidos de este elemento, sin embargo en ciertas áreas el contenido natural puede llegar a ser de varios cientos de  $\mu\text{g}/\text{l}$ , tal es el caso de algunas ciudades de Polonia (Geyer, 1898; Jašinška et al., 1965), Argentina (Argüello et al., 1939; Trelles et al., 1970), Taiwan (Tseng et al., 1968; Yeh, 1973), U.S.A. (Goldblatt et al., 1963). En México se ha encontrado una elevada cantidad de arsénico en el agua de uso de un poblado cercano a la ciudad de Torreón (Hernández, comunicación personal).

Las formas químicas de arsénico presentes en los cuerpos acuáticos son principalmente las inorgánicas (arseniato y arsenito), pero también se encuentran el ácido metilarsénico (MAA) y el ácido dimetilarsénico (DMAA), estos estados no son constantes ya que existe una relación dinámica a través de reacciones biológicas de óxido-reducción y de metilación-dimetilación, que proveen rutas de interconversión de los diferentes arsenicales (Henry y Thorpe, 1980).

Este metaloide puede ser captado por los organismos, debido a que hay

gran variedad de fuentes a través de las cuales pueden absorberlo y hacerlo llegar al hombre. La concentración de arsénico en plantas y animales varía de acuerdo al ambiente en el que se desarrollen así como también al grado de acumulación biológica.

Se han descrito niveles altos en muchos productos marinos como almejas, cangrejos, platijas, langostinos, peces, etc., (Schroeder y Balassa, 1966; Benson y Summon, 1981; Luten et al., 1982).

La retención en los vegetales depende de la solubilidad de los compuestos arsenicales, de su concentración y de las propiedades de unión del suelo, de tal forma que puede ser absorbido para perjudicar o matar a plantas sensibles o llegar hasta las hojas y así ser peligroso para cualquier organismo que se alimente de ellas (Ratsch, 1974; Jernelöv et al., 1978). Afortunadamente las porciones comestibles de las plantas rara vez acumulan niveles peligrosos de arsénico por que su fitotoxicidad ocurre antes de que tales porcentajes sean alcanzados. No obstante, se ha determinado que la concentración más alta se observa en la raíz, niveles intermedios en el tejido vegetativo y los más bajos en el tejido reproductor (Walsh et al., 1977).

Este elemento entra a las células mediante el sistema de transporte de los fosfatos y sulfatos, que normalmente se encuentran en las membranas celulares (Jung y Rothstein, 1965; Jennette, 1981).

Se ha descrito que la toxicidad, el transporte y el metabolismo están asociados con el tiempo de exposición, la dosis, el estado de valencia, la estructura química y la vía de administración (Axelson, 1980; U.S. Environmental Protection Agency, 1983).

Penrose y colaboradores (1977) mencionan que la toxicidad de los compuestos arsenicales se reduce en la siguiente dirección: arsenaminas (trivalentes inorgánicas u orgánicas) > arsenito inorgánico > arsenóxidos > arseniato inorgánico > arsenicales pentavalentes > compuestos arseniosos (4 grupos orgánicos con una carga + en el As) > arsénico metálico.

Sus compuestos pueden ser ingeridos en alimentos y agua contaminados; inhalados de la atmósfera o absorbidos a través de la piel ocasionando daño

a los sistemas: respiratorio, cardiovascular, nervioso y hematopoiético, así como también trastornos gastrointestinales, leucemias, audición baja y lesiones de la piel y del hígado (Roth, 1958; Cmarko, 1963; Tseng et al., 1968; Lee y Fraumeni, 1969; Medvedová y Cmarko, 1974; Ott et al., 1974; Zaldivar, 1974; Bencko et al., 1977; NAS, 1977; Axelson et al., 1978; Welch et al., 1982).

Los principales síntomas en la intoxicación aguda por compuestos inorgánicos de arsénico son: dolor y daño gastrointestinal con vómito y diarrea; adormecimiento y punzadas de las extremidades, particularmente de los pies; intensa sed y calambres musculares; hidropesía de la cara y párpados; pérdida del apetito; ulceración de la piel; ulceración y perforación del septum nasal (Léonard y Lauwers, 1980).

Se ha estudiado la distribución del arsénico inorgánico en varias partes del cuerpo de distintas especies de animales (Du Pont et al., 1941; Hunter et al., 1942; Ducoff et al., 1948; Lanz et al., 1959; Crema, 1955; Charbonneau et al., 1978, 1979) así como también en humanos (Mealy et al., 1959; Crecelius, 1977; Mappes, 1977; Pomroy et al., 1980), y se ha observado que ésta depende del organismo del que se trate, del compuesto, del tiempo y nivel de exposición. Así se ha determinado que el arsénico trivalente en ratas tiene una alta afinidad por las células rojas sanguíneas ya que se une a la globulina de la hemoglobina (Ducoff et al., 1948; Lanz et al., 1950; Dutkiewicz, 1977), en cambio en pollos, ratones, conejos, cerdos, perros y humanos se acumula muy poco en la sangre.

El arsénico afecta principalmente al hígado, sin embargo también se ha encontrado en sangre, riñón, bazo, pulmón, pared del tracto gastrointestinal, músculo, piel, pelo y leche. Su retención en los diferentes órganos es mayor para el estado trivalente que para el pentavalente y aumenta conforme se incrementa la concentración, además depende de la vía de administración (Hunter et al., 1942; Eiji, 1955; Peoples, 1964; González et al., 1972; Klaassen, 1974; Milham y Strong, 1974; Bencko et al., 1977; Vahter y Norin, 1980).

La mayor parte del arsénico es eliminada en forma rápida, principalmente



a través de la orina, pero también constituyen otras vías de excreción las heces, bilis, piel, uñas, pelo y leche (Peoples, 1964; Klaassen, 1974; Crecelius, 1977; Vahter y Norin, 1980).

Con respecto al metabolismo existen diferencias para los dos estados de valencia así como para la dosis administrada (Vahter y Norin, 1980). Los compuestos orgánicos se excretan en su forma original y sin causar alteraciones (Crecelius, 1977), en cambio los compuestos inorgánicos se eliminan lentamente y la mayor parte es metilada in vivo a MAA y DMAA y solo una pequeña porción es desechada como tal, esto se ha observado tanto en animales (Charbonneau et al., 1978; Tam et al., 1978; Vahter, 1981) como en humanos (Braman y Foreback, 1973; Peoples, 1975; Crecelius, 1977; Smith et al., 1977). Además, si la forma trivalente es absorbida esta es oxidada al estado pentavalente, que es el menos tóxico (Schroeder y Balassa, 1966; Frost, 1967). Sin embargo, también puede ocurrir la reducción in vivo del estado pentavalente al tri-valente en las células de los túbulos renales (Ginsburg y Lotspeich, 1963; Peoples, 1964; Ginsburg, 1965).

Los compuestos de arsénico han sido probados ampliamente, por diferentes vías de administración para demostrar la inducción de cáncer en animales de laboratorio. Los resultados han sido negativos (Hueper y Payne, 1962; Baroni et al., 1963; Boutwell, 1963; Byron et al., 1967; Frost, 1967; Milner, 1969; Kroes et al., 1974; Sunderman, 1979), con excepción de dos reportes, en uno de ellos se suministra arseniato de sodio subcutáneamente a ratas preñadas (Osswald y Goerttler, 1971) y en el otro se aplica por vía intratraqueal una mezcla de arseniato de calcio, sulfato de cobre e hidróxido de calcio (Ivankovic et al., 1979). Sin embargo, en 1980 la Agencia Internacional de Estudios de Cáncer (IARC) concluyó que en ambos casos los experimentos fueron realizados inadecuadamente.

No obstante, desde el siglo pasado se ha considerado al arsénico como uno de los elementos que ocasionan cáncer y desde entonces se han descrito numerosos casos y estudios concernientes a la exposición de compuestos arsenicales, los cuales proporcionan amplias evidencias de que este metaloide es un carcinógeno humano (IARC, 1980).

Los resultados epidemiológicos y las observaciones clínicas han implicado a los compuestos inorgánicos de arsénico como carcinógenos de la piel y de los sistemas respiratorio y digestivo, principalmente en los trabajadores de las fundiciones de metales (Neubauer, 1947; Osburn, 1957; Pinto y Bennett, 1963; Hueper, 1966; Lee y Fraumeni, 1969; Kuratsune et al., 1974; Milham y Strong, 1974; Blot y Fraumeni, 1975; Tokudome y Kuratsune, 1976; Pinto et al., 1977; Rencher et al., 1977; Axelson et al., 1978; Pershagen, 1978; Pershagen et al., 1982; Cordier et al., 1983); en personas expuestas durante la elaboración y uso de pesticidas (Hill y Fanning, 1948; Friedrich, 1972; Zachariae, 1972; Baetjer et al., 1974; Ott et al., 1974; Mabuchi et al., 1979); en trabajadores vitivinícolas (Roth, 1958; Galy et al., 1963; Thiers, 1965); en obreros de la industria química y metalúrgica (Osswald y Goerttler, 1971; Ott et al., 1974); en mineros (Osburn, 1957) y en los individuos a los que se les administraron medicamentos arsenicales (Hutchinton, 1888; Robson y Jelliffe, 1963; Fiertz, 1965; Goldman, 1973; Ehlers, 1974).

Por otra parte, las personas que han consumido agua contaminada por arsénico acumulan dicho elemento, lo cual permite asumir que puede ser un factor etiológico común de cáncer en la piel (Tseng et al., 1968; Yeh, 1973).

El ejemplo clásico de toxicidad por ingestión de arsénico en el agua de uso público es la ocurrencia de cáncer de la piel en miembros de dos poblaciones, unos residentes en el Distrito de Reichenstein, en Polonia (Geyer, 1898) y el otro en la Provincia de Córdoba en Argentina (Argüello et al., 1939). En el primer caso la contaminación del agua fue debida principalmente a la vecindad con minas de oro y plata; en el segundo, el agua se obtenía de la formación de rocas que contenían grandes cantidades de arsénico. Los habitantes de estas regiones frecuentemente sufren, además de cáncer de la piel, dermatosis arsenical crónica (Hueper, 1960). Otro caso de contaminación de los mantos freáticos se presentó en Alemania, por la cercanía con una fundición de minerales de cinc (Matthess, 1981).

El arsénico ha mostrado ser teratogénico (Fisher, 1982). Se ha descrito que los compuestos arsenicales introducidos en huevos de aves fertilizados causa malformaciones del pico y cerebro (Peterková y Puzanová, 1976); en cambio cuando se administraron dosis elevadas y prolongadas de arsenito de

sodio por vía oral a hembras de criceto preñadas, produce inhibición del crecimiento pero no malformaciones, mientras que cuando este compuesto se aplica intraperitonealmente si se presentan (Hood y Harrison, 1982).

También, se ha mostrado que en ratas, ratones y en el hombre el arsenito y el arseniato de sodio son teratogénicos (Bencko et al., 1968; Hood y Bishop, 1972; Ferm, 1972; Beaudoin, 1974; Burk y Beaudoin, 1977).

James y colaboradores (1966) observan reducción en la talla de los descendientes de conejos, cuya dieta estuvo complementada con arseniato de calcio.

con respecto al efecto mutagénico de este elemento se ha informado que los compuestos inorgánicos pueden interferir con los mecanismos de reparación del ADN (Rossman et al., 1975; Pershagen, 1981; Rossman, 1981a).

La incorporación de nucleótidos marcados radioactivamente es reducida en células dérmicas y en linfocitos por arseniato de sodio (Petres et al., 1977).

La reparación post-replicación en Escherichia coli fue disminuida por arsenitos (Rossman et al., 1977).

Se han obtenido resultados positivos de mutagenicidad in vitro en Escherichia coli con arseniato y arsenito de sodio y tricloroarsénico (Ficsor y Piccolo, 1972; Nishioka, 1975). También se tiene respuesta mutagénica al probar cinco compuestos de arsénico en Bacillus subtilis (Kanematsu et al., 1980), mientras que con otras sustancias de arsénico trivalente y pentavalente son negativos en Salmonella typhimurium (Löfroth y Ames, 1978), en E. coli y en células de mamífero (Rossman et al., 1980).

Se ha descrito que el arsenito a concentraciones bajas puede actuar como antimutágeno (Okui y Fujiwara, 1985) disminuyendo las mutaciones causadas por la luz UV en E. coli (Rossman et al., 1977; Rossman, 1981b). También, se observa efecto semejante en Drosophila melanogaster, en donde la frecuencia de mutaciones inducidas por el metil metano sulfonato (MMS) disminuyen en presencia de arsenito de sodio (Rasmuson, 1985).

Los compuestos arsenicales son potentes clastógenos e inducen inhibición mitótica y aberraciones cromosómicas en: Drosophila melanogaster (Ahmed y

Walker, 1972), Allium cepa (Nygren, 1949; El-Sadek, 1972; Kharab y Singh, 1985), maíz (El-Sadek, 1972), fibroblastos de ratón y humanos y en cultivos de leucocitos y linfocitos humanos (Paton y Allison, 1972).

Se ha observado incremento de aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica humana de trabajadores expuestos a arsénico, así como en pacientes que han tomado drogas conteniéndolo (Petres et al., 1970, 1977; Beckman et al., 1977; Nordenson et al., 1978, 1979).

Además, han sido inducidas aberraciones in vitro en cultivo de células de fibroblastos, leucocitos y linfocitos humanos por sales de arsénico tri-valentes y pentavalentes (Oppenheim y Fishbein, 1965; Petres y Hundeiker, 1968; Petres et al., 1970; Paton y Allison, 1972; Petres y Berger, 1972; Nakamuro y Sayato, 1981; Nordenson et al., 1981) en donde se ha demostrado que el arsenito es un inductor de aberraciones mucho más poderoso que el arseniato.

también, se ha encontrado aumento en la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas (ICH), en linfocitos humanos in vivo e in vitro, cuando son expuestos a compuestos arsenicales (Burgdorf et al., 1977; Zanzoni y Jung, 1980; Larramendy et al., 1981; Nordenson et al., 1981; Wu-Nan et al., 1981; Andersen, 1983).

Los estudios realizados para conocer los efectos bioquímicos y celulares ocasionados por el arsénico, han ayudado a explicar su acción en el material genético (Vallee et al., 1960; Frost, 1967; IARC, 1973; Fowler et al., 1977; Savory y Fedor, 1977), sin embargo muchos de estos mecanismos a través de los cuales los arsenicales provocan daño en los cromosomas no son muy claros (Léonard y Lauwerys, 1980).

No obstante, se sabe que el efecto producido en los cromosomas por ambos estados de oxidación es diferente (Nakamuro y Sayato, 1981).

también, se ha descrito que tanto el arseniato como el arsenito inhiben a diferente nivel la respiración mitocondrial y afectan la fosforilación oxidativa (Ochoa, 1941; Gordon y Quastel, 1948; Crane y Lipman, 1953; Sanadi et al., 1959; Azzone y Ernster, 1961; Oehme, 1972; Jernelöv et al., 1978; Fong et al., 1980; Léonard y Lauwerys, 1980; Pershagen, 1981).

Además, suprimen la actividad enzimática, bloqueando los grupos sulfhídricos (SH) de las proteínas y ésta es mayor para el estado trivalente que para el pentavalente (Peters et al., 1946; Peters, 1955; Fluharty y Sanadi, 1961; Luh et al., 1973; Sram y Bencko, 1974; Wagner y Weswig, 1974; Jernelöv et al., 1978).

Se ha determinado que el arsenito es uno de los pocos compuestos que inhibe el metabolismo a un nivel tan bajo que afecta la división celular (Brock et al., 1939).

Jung y colaboradores (1969) muestran que el arseniato de sodio impide la captación de metil-timidina en las células dérmicas humanas in vitro, con la supresión consecuente de la síntesis de ADN. La incorporación de timidina (<sup>3</sup>H) y de leucina (<sup>14</sup>C) en leucocitos es obstruida en mayor grado por el arsenito que con arseniato (Nakamuro y Sayato, 1981).

Por otra parte, dada la similitud entre el arsénico y el fósforo se ha planteado la posibilidad de que el primero sustituya al segundo compitiendo en los procesos biológicos (Rosen, 1971; Petres et al., 1970, 1977).

Debido a que es difícil hacer experimentos directos con el hombre, es necesario el uso de sistemas de prueba más sencillos que permitan determinar el daño a nivel genético. Un sistema adecuado lo constituyen las células meristemáticas de la raíz del haba (Vicia faba), ya que sus cromosomas con pocos ( $2n = 12$ ), grandes y fácilmente observables (Kihlman, 1975).

El cariotipo normal de Vicia faba está formado por un par de cromosomas metacéntricos que presentan una constricción secundaria en la región del organizador nucleolar y cinco pares de cromosomas subacrocéntricos. La duración del ciclo celular en la raíz principal es de 19.3 horas a 19°C. La interfase comprende los períodos G<sub>1</sub> (presintético), S (sintético) y G<sub>2</sub> (postsintético) que tienen una duración de 4.9, 7.5 y 4.9 horas respectivamente y la mitosis de 2 horas (Evans y Scott, 1964) (Fig. 1).

La división celular es afectada por sustancias que influyen en alguna fase de la división, la formación del huso mitótico y la citocinesis (Kihlman, 1966). Los agentes que impiden la entrada de las células en mitosis inhiben 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 revierte a la condición de interfase (D'amato, 1949).

Según Evans (1963) y Wolff (1963) se podría utilizar el lapso entre el inicio del tratamiento y la aparición de aberraciones como un indicador de la sensibilidad de los diferentes períodos de la interfase, ya que posiblemente el retardo en la aparición de las aberraciones se deba al alargamiento en la duración del ciclo celular el cual es inducido por la mayoría de los agentes químicos.

Considerando los estudios citogenéticos realizados, los agentes físicos y químicos se han clasificado de acuerdo al momento en que aparecen las aberraciones, cuando éstas se presentan al menos 3 horas después de iniciado el tratamiento y su frecuencia máxima está entre las 4 y las 10 horas se consideran como de efecto no retardado, en cambio si surgen 8 horas después del tratamiento y su frecuencia máxima se evidencia entre las 24 y 48 horas se considera como agente de efecto retardado (Kihlman, 1963, 1966).

De acuerdo con Kihlman y colaboradores (1978) es posible reunir a los agentes físicos y químicos que originan aberraciones en los cromosomas en dos grupos: S-dependientes y S-independientes.

Los primeros incluyen la radiación ultravioleta y los agentes alquilantes (Bender et al., 1973) y en los segundos las radiaciones ionizantes, los antibióticos como la bleomicina, la pleomicina, la estreptonigrina y las oxipurinas metiladas (Kihlman, 1977).

Con los S-dependientes es necesario que se realice la síntesis de ADN para que las aberraciones se expresen y únicamente originan alteraciones cromatídicas no importando el estado del ciclo celular en el que se encuentran las células sobre las que actúan y son producidas por rompimientos de banda sencilla y daño a las bases del ADN (Kihlman et al., 1978).

Con los S-independientes las aberraciones se presentan sin requerir de la síntesis del ADN y originan alteraciones de diferentes tipos de acuerdo a la etapa del ciclo celular en donde se lleve a cabo el efecto, estas serán: sub-cromatídicas cuando la unidad de rompimiento es la media cromátida y las

alteraciones se provocan en profase; cromatídicas si la unidad de ruptura es la cromátida y se forman en S y G<sub>2</sub> y cromosómicas donde la unidad de rompimiento es el cromosoma y se producen en G<sub>1</sub>. Son el resultado de daño a las bases y de rompimientos de banda sencilla y doble (Kihlman, 1966, 1977).

También los agentes físicos y químicos tienen efecto sobre la región centrómera originando los cromosomas retardados, causados por la inactivación del centrómero (Tomkins y Grant, 1972) y los isocromosomas formados por la ruptura transversal del centrómero (Ramanna y Natarajan, 1966; Nicoloff y Gecheff, 1976).

Debido a la problemática que representa la contaminación del ambiente, ocasionada por el incremento en el uso de sustancias tóxicas, es necesario el estudio de los efectos genotóxicos que estas manifiestan en los organismos, para lo cual se requiere de sistemas de prueba como es el caso de Vicia faba, en donde se puede evaluar el daño provocado por estos agentes.

Por lo anterior y considerando el amplio espectro toxicológico del arsénico, se decidió investigar el comportamiento citogenético del arseniato de sodio y arsenito de potasio en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba. Además de cuantificar el efecto genético inducido por agua contaminada por arsénico de un poblado de la Región Lagunera Coahuila, en el mismo sistema biológico antes mencionado.

## MATERIAL Y METODO

Se emplearon semillas de Vicia faba (var. minor) las cuales fueron lavadas en agua corriente por dos horas, y se dejaron en imbibición durante 24 horas con el propósito de acelerar la germinación; posteriormente se enjuagaron y se pusieron a germinar entre dos capas de algodón humedecido con agua de la llave, se mantuvieron en la oscuridad a una temperatura constante de 21±1°C. Cuando apareció la radícula (entre el 4° y 5° día) se removió la testa para evitar la contaminación por hongos. La raíz se dejó crecer hasta que alcanzó

una longitud de 3 a 4 cm y con estas se formaron lotes de 5 plántulas.

Las sustancias que se utilizaron fueron: arseniato de sodio (ICN) y arsenito de potasio (ICN) y las concentraciones, establecidas con base a experiencias previas fueron las siguientes: arseniato de sodio: 0.0001, 0.001 y 0.01 M; arsenito de potasio: 0.000001, 0.00001 y 0.0001 M. Se aplicaron tratamientos de 1, 2 y 3 horas sin recuperación y de 4 horas con 2, 14, 18, 42 y 44 horas de recuperación (estos tiempos fueron legidos con base en experimentos preliminares).

Los tratamientos se llevaron a cabo en la oscuridad, colocando cada una de las soluciones en cristalizadores, los cuales se cubrieron con tapas de papel aluminio con perforaciones por donde se introdujeron las raíces de tal manera que el meristemo radical quedara en contacto con la solución durante el tratamiento.

Al finalizar el tratamiento las plántulas se lavaron y colocaron en un baño con agua corriente a una temperatura de 19°C y aereación constante, mediante un filtro de piso, durante 2, 14, 18, 42 y 44 horas para su recuperación.

Cada uno de los tiempos de tratamiento tuvo su lote testigo, cuyas raíces permanecieron en agua destilada y su recuperación fue bajo las mismas condiciones que en los tratados.

Se obtuvieron las preparaciones de los meristemas de raíz, modificando la técnica de Villalobos-Pietrini (1965). Se hicieron cortes de 2 mm de las puntas de raíz a las que previamente se les eliminó la cofia, y se colocaron en portaobjetos excavados que contenían HCl (Baker) 5N durante 10 minutos, con el fin de hidrolizarlos, enseguida se eliminó el exceso de ácido con papel absorbente; se agregaron unas gotas de acetoorceína\* dejándose por 20 minutos. A continuación se pasaron los cortes a portaobjetos planos, los cuales contenían unas gotas de ácido acético (Baker) al 45%; rápidamente se colocaron cubreobjetos sobre los cortes y se hizo presión con la goma de un lápiz ("squash").

Las preparaciones anteriores se hicieron permanentes, utilizando la

\* Se preparó mezclando 3 g de orceína sintética (Sigma) y 100 ml de ácido acético (Baker) al 70%; se calentó a ebullición y a reflujo durante 2 horas; se dejó enfriar y se filtró.



técnica de Conger y Fairchild (1953), poniéndolas sobre hielo seco durante unos minutos, después se desprendió el cubreobjetos con un bisturí; en seguida se deshidrataron con 2 cambios rápidos de butanol absoluto (Baker), se limpió el exceso de alcohol y se montaron en bálsamo de Canadá (Sigma).

Se identificaron y cuantificaron las alteraciones cromosómicas, analizando aproximadamente 80 preparaciones por cada concentración, observándose todas las células en anafase, registrando fragmentos sencillos y dobles, puentes subcromatídicos, sencillos y dobles con y sin fragmentos, cromosomas con el centrómero inactivado, isocromosomas y también se determinó la presencia de micronúcleos revisando al azar 1000 células en interfase.

Se analizaron los testigos correspondientes de cada concentración y tiempo de recuperación.

Además, se obtuvo el índice mitótico (I.M.) a partir de campos tomados al azar y se calculó de la siguiente manera:

$$\text{I.M.} = \frac{\text{Número de células en división}}{\text{Número total de células}} \times 100$$

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

$$p = \frac{N_1 P_1 + N_2 P_2}{N_1 + N_2}$$
$$q = 1 - p$$
$$\sigma_{P_1 - P_2} = \sqrt{pq (1/N_1 + 1/N_2)}$$
$$z = \frac{P_1 - P_2}{\sigma_{P_1 - P_2}}$$

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 %)
$\sqrt{P_1 - P_2}$	=	desviación estándar de los índices mitóticos
$z$	=	valor crítico
$p$	=	probabilidad de encontrar células en mitosis
$q$	=	probabilidad de encontrar células en interfase

En todas las concentraciones y tiempos de recuperación de ambas sales se realizó una serie de experimentos y después se hizo la repetición de cada uno de ellos.

En la segunda parte del estudio se realizaron tratamientos in situ, con agua contaminada por arsénico en el Poblado El Cantabro en la Región de la Comarca Lagunera, Coahuila y se empleó como sistema biológico de prueba raíces de Vicia faba las cuales fueron introducidas en el agua contaminada. Se siguió el mismo esquema de trabajo diseñado para los experimentos en el laboratorio.

La determinación de la cantidad de arsénico presente en el agua de pozo, la realizó el Departamento de Bioquímica, de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila, mediante técnica de espectrofotometría de absorción atómica.

Además, para poder analizar los resultados obtenidos en ambos experimentos fué necesario transformar los datos de las soluciones molares, que inicialmente se calcularon, a partes por millón (ppm) ya que la concentración de arsénico contenida en el agua contaminada fue obtenida en ppm.

## RESULTADOS

Los efectos producidos por el arsénico en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba se evaluaron mediante el registro de todas las alteraciones que se observaron en las células en anafase, tales como los fragmentos sencillos y dobles (Fig. 2a,b); puentes subcromatídicos (Fig. 2c); puentes sencillos y dobles (Fig. 2d,e) con y sin fragmentos (Fig. 2f) así como otras alteraciones como los cromosomas con el centrómero inactivado (Fig. 2g), los isocromosomas (Fig. 2h) y las anafases multipolares (Fig. 2i) y también las anomalías en células en interfase como son los micronúcleos (Fig. 2j). En general, se cuantificó una alteración por anafase pero en otras hubo más de una (Fig. 2k,l).

A continuación se analizaran por separado los resultados obtenidos para cada una de las sales y del agua contaminada:

### ARSENIATO DE SODIO

Las aberraciones subcromatídicas (puentes subcromatídicos) aparecen en las tres primeras horas de tratamiento en 0.0001 M (Tabla 1) y en la segunda y tercera horas para 0.001 M (Tabla 2) y en las dos primeras horas en 0.01 M (Tabla 3).

Las aberraciones cromatídicas (fragmentos y puentes sencillos) se manifiestan a partir de las primeras horas de tratamiento y permanecen durante casi todos los tiempos de tratamiento y recuperación en 0.0001 M (Tabla 1). En cambio, en el concentración de 0.001 M se notan en todos los casos, con excepción del de 4 horas con 14 de recuperación en donde no se observan figuras mitóticas (Tabla 2). Para 0.01 M se evidencian en las dos primeras horas de tratamiento y a las 4 horas con 42 y 44 de recuperación, ya que en los otros tiempos hubo un abatimiento de la división celular (Tabla 3).

Las aberraciones cromosómicas (fragmentos y puentes dobles) en 0.0001 M se muestran a las 4 horas con 14, 18, 42 y 44 horas de recuperación (Tabla 1); para 0.001 M se manifiestan a las 18, 42 y 44 horas de recuperación (Tabla 2); en 0.01 M se notan a las 42 y 44. horas de recuperación (Tabla 3).

Los cromosomas con el centrómero inactivado se advierten en 0.0001 M a partir de la primera hora (Tabla 1), en la mayoría de los tratamientos para 0.001 M (Tabla 2) y solo en 1, 2 horas y en 4 con 42 y 44 horas de recuperación para 0.01 M (Tabla 3).

Los isocromosomas aparecen desde la primera hora y se mantienen en casi todos los tiempos en los tres casos (Tablas 1, 2 y 3).

Las anafases multipolares se presentan desde la primera hora y permanecen en la mayoría de los tratamientos en 0.0001 y 0.001 M (Tablas 1 y 2). En cambio, para 0.01 M únicamente a las dos primeras horas y a las 48 horas de iniciado el tratamiento (Tabla 3).

Los micronúcleos se ven en todas las concentraciones desde la primera hora (Tablas 1, 2 y 3).

En la tabla 8 se incluyen los valores promedio de los resultados obtenidos con las diferentes concentraciones de arseniato de sodio, en donde se observa que a medida que aumenta la concentración disminuye el número de anafases; mientras que las aberraciones totales se incrementan conforme a la concentración, en cambio las anafases anormales, los cromosomas con el centrómero inactivado, los isocromosomas y las anafases multipolares aumentan en 0.001 M para posteriormente disminuir, aunque este decremento no es muy drástico para el caso de anafases anormales e isocromosomas; en tanto que los micronúcleos no manifiestan ningún comportamiento de acuerdo con la dosis.

#### ARSENITO DE POTASIO

Las aberraciones subcromatídicas se evidencian en la primera y tercera horas en 0.000001 M (Tabla 4), en la segunda y tercera horas en 0.00001 M (Tabla 5) y únicamente en la primera hora en 0.0001 M (Tabla 6).

En 0.000001 y 0.00001 M las aberraciones cromatídicas se notan en casi todos los tratamientos (Tablas 4 y 5). Para la concentración mayor (0.0001 M), se ven a partir de la primera hora permaneciendo en los demás tiempos excepto a las 4 horas con 2 de recuperación, en donde no hubo figuras mitóticas (Tabla 6).

Las aberraciones cromosómicas se evidencian en la mayoría de los casos, en los tratamientos de 4 horas con 14, 18, 42 y 44 horas de recuperación (Tablas 4, 5 y 6), menos en la concentración más baja (0.000001 M) en la que no se encuentran fragmentos y puentes dobles a las 42 y 44 horas respectivamente (Tabla 4).

Los cromosomas con el centrómero inactivado se presentan en todos los tiempos de tratamiento y recuperación, con algunas excepciones en 0.000001 M (Tabla 4) y en 0.0001 M (Tabla 6), en donde no aparecen figuras mitóticas.

En 0.000001 M los isocromosomas se advierten en todos los casos (Tabla 4); en tanto que para 0.00001 M surgen a partir de la segunda hora y se mantienen en todos los demás tiempos (Tabla 5). Para 0.0001 M se notan en todos los tiempos menos a las 44 horas de recuperación (Tabla 6).

Las anafases multipolares se manifiestan en todas las concentraciones (Tablas 4, 5 y 6) y en la mayoría de los tiempos, pero no a las 42 horas para 0.000001 M (Tabla 4) y en 0.0001 M a las 6 horas de iniciado el tratamiento, en donde no hay figuras mitóticas (Tabla 6).

Los micronúcleos se observan en todos los tratamientos, excepto a las tres horas en 0.000001 M (Tabla 4) y en 0.00001 M a la primera y a las 22 horas de iniciado el tratamiento (Tabla 5).

En la tabla 8 se muestran las frecuencias de los resultados obtenidos para las diversas concentraciones de arsenito de potasio, en donde se observa que en la mayor concentración (0.0001 M), el número de anafases disminuye considerablemente, en tanto que las anafases anormales, aberraciones totales y cromosomas con el centrómero inactivado no tienen relación con la dosis, ya que como se puede apreciar en 0.00001 M la frecuencia baja y posteriormente vuelve a subir, en cambio los isocromosomas y las anafases multipolares tienen un pequeño aumento de acuerdo con la concentración, mientras que los micronúcleos en las dos primeras dosis se mantienen constantes y posteriormente aumentan ligeramente.

#### AGUA DE POZO

La concentración de arsénico contenida en el agua de pozo es de 0.3 ppm.

Las aberraciones subcromatídicas se obtienen únicamente en la primera hora de tratamiento (Tabla 7).

Las aberraciones cromatídicas aparecen desde la primera hora y permanecen en todos los demás tiempos de tratamiento y recuperación (Tabla 7).

Las aberraciones cromosómicas surgen en los tratamientos de 4 horas con 18, 42 y 44 horas de recuperación para los puentes dobles y solamente en los dos últimos los fragmentos dobles (Tabla 7).

Los cromosomas con el centrómero inactivado y los isocromosomas se advierten en casi todos los casos, excepto a las 18 y 22 horas después de iniciado el tratamiento respectivamente (Tabla 7).

Las anafases multipolares se manifiestan en la primera y segunda horas de tratamiento y posteriormente a las 4 horas con 2, 14, 18 y 42 horas de recuperación (Tabla 7).

Los micronúcleos se evidencian a partir de la primera hora y se presentan en todos los demás tiempos, menos a las 22 horas de iniciado el tratamiento (Tabla 7).

En la tabla 8 se observan los valores promedio de los resultados obtenidos con el agua de pozo contaminada por arsénico, en donde se ve que estos son similares a los registrados en el laboratorio con las sales de arsénico.

El índice mitótico es otro parámetro que se evalúa para determinar el daño producido por el arsénico. En la tabla 9 y en la figura 3 se muestran los valores obtenidos para cada compuesto, con sus concentraciones correspondientes, además de los determinados para el agua contaminada, así como de sus testigos respectivos, encontrándose que a un  $\alpha$  de 0.05 hay un efecto inhibitor del índice mitótico del arseniato de sodio en 0.001 y 0.01 M, al igual que para la dosis mayor de arsenito de potasio (0.0001 M). En los demás casos no hay diferencia significativa con respecto al testigo.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las plantas superiores han demostrado ser un sistema biológico de prueba, adecuado para conocer el efecto genético de las sustancias con las que los organismos están relacionados, ya sea en forma directa o indirecta.

Para evaluar los efectos que los agentes físicos y químicos producen a nivel cromosómico generalmente se observan los cromosomas en las etapas de metafase y/o anafase, debido a que son las dos fases de la mitosis en las cuales los cromosomas están más contraídos, además de que son identificados fácilmente (Conger, 1965; Kihlman, 1975). En éste estudio se decidió hacer la cuantificación de aberraciones en las células en anafase, ya que en éste estado también se pueden observar otro tipo de alteraciones como son los cromosomas con el centrómero inactivado, que se originan cuando el centrómero es dañado (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini, 1983); los isocromosomas, debidos a la ruptura transversal del centrómero (Ramanna y Natarajan, 1966; Nicoloff y Gecheff, 1976) y las anafases multipolares que se deben a disturbios en la formación y funcionamiento del huso mitótico (Gómez-Arroyo, 1980).

Dos variables importantes que se deben de considerar en los experimentos, son los tiempos de tratamiento y recuperación y esto es con el fin de establecer la sensibilidad de cada una de las diferentes etapas del ciclo celular y determinar si las sustancias probadas, provocan retardo en la duración del mismo (dando tiempos largos) o si estos actúan inmediatamente, para lo cual se aplican tratamientos cortos (1, 2 y 3 horas) (Gómez-Arroyo, 1980).

El arsénico, principalmente el arsenito de potasio, produjo endurecimiento de las raíces y esto posiblemente se debió a que algunos compuestos arsenicales son empleados como preservadores de la madera, preferentemente en las estacas (Savory y Fedor, 1977; Axelson, 1980; Léonard y Lauwers, 1980).

El arsénico, al igual que las radiaciones ionizantes y algunos agentes químicos (Kihlman, 1966), produjo aberraciones subcromatídicas (Tablas 1 a 7), las cuales son inducidas en profase debido a un intercambio subcromatídico. Según Kihlman (1963) este tipo de aberraciones deben observarse en las dos primeras horas de iniciado el tratamiento, lo cual esta de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, sin embargo el hecho de que aparezcan en la tercera hora, implica que posiblemente se ha producido un alargamiento en la duración de la profase, ya que según Evans y Scott (1964) ésta se efectúa aproximadamente en una hora.

Kihlman (1963, 1966), menciona que las aberraciones de tipo cromatídico, que son inducidas en los períodos S y G<sub>2</sub>, deberían aparecer entre las 2 y las 14 horas de recuperación, con el grupo de agentes que considera de efectos "no retardados". En este estudio, este tipo de aberraciones surgen desde las primeras horas de tratamiento en todos los casos, lo cual está de acuerdo con Kihlman (1963, 1966) al considerarse al arsénico como un agente de efecto no retardado en cuanto a la aparición de las aberraciones.

En el período G<sub>1</sub> se producen las aberraciones cromosómicas y según Kihlman (1963, 1966), éstas deben manifestarse a las 14 horas de recuperación, este mismo comportamiento se presentó para el arsenito de potasio, mientras que para la concentración mayor de arseniato de sodio se observaron a las 42 y 44 horas de recuperación implicando un alargamiento en el ciclo celular (Evans, 1963; Wolff, 1963).

Como se observa el arsénico es un fuerte inductor de aberraciones cromosómicas en Vicia faba y esto también se ha determinado en células animales y humanas que estuvieron expuestas a compuestos de arsénico, en donde se ha determinado que el arsenito tiene un efecto clastogénico mayor que el arseniato (Paton y Allison, 1972; Bencko, 1977; Nakamuro y Sayato, 1981; Pagano et al., 1982).

En este trabajo el arsénico trivalente resulta ser más citotóxico que el pentavalente, ya que aunque aparentemente el As (V) fue un inductor más poderoso de aberraciones cromosómicas esto pudo ser debido a que las concentraciones empleadas fueron más altas que las utilizadas para As(III), ya que en dosis similares a las del arseniato (0.001 y 0.01 M) y aún en dosis más bajas (0.0005 y 0.00075 M) el arsenito ocasionó la muerte celular.

En los tiempos de recuperación mayores de 18 horas, todavía se registraron células con aberraciones cromatídicas mezcladas con células que presentan aberraciones cromosómicas. La presencia de ambos tipos de alteraciones pueden ser el resultado de un efecto producido en la parte final del período G<sub>1</sub> y en el inicio de la síntesis y debido al retardo en el ciclo celular los dos tipos de aberraciones se presentan después de las 18 horas (Gómez-Arroyo, 1980).

Se ha visto que los agentes químicos (Heiner, 1971) y las radiaciones



ionizantes provocan alargamiento del ciclo celular tanto en vegetales (Evans et al., 1959; Kovacs y Van't Hof, 1971) como en animales (Walters y Petersen, 1968; Lafontaine y Firket, 1972). Esto se ha demostrado, entre otros, en haba con el dietil sulfato (Heiner, 1971), en semillas de cebada al ser tratadas con etileneimina en donde además se observó un retardo en la síntesis del ADN (Arnason et al., 1966).

También las radiaciones gamma originan un retardo mitótico, el cual es mayor para las células que fueron irradiadas en  $G_1$  y S que para las que estaban en  $G_2$  (Evans et al., 1959).

El retardo en el ciclo celular puede expresarse inmediata o posteriormente, dependiendo de que la célula haya sintetizado o no sus proteínas, considerándose la etapa en la que estaba la célula cuando fué dañada (Kovacs y Van't Hof, 1971).

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

En este caso una de las posibles causas del retardo mitótico se debe a que el arsénico inhibe la síntesis de proteínas (Nakamuro y Sayato, 1981), y se ha demostrado que este elemento principalmente, en su forma inorgánica tri-valente, reacciona con los grupos sulfhídricos (SH) de las proteínas (Fluharty y Sanadi, 1961; Peters et al., 1946) suprimiendo la actividad enzimática, ya que altera la conformación activa normal de las enzimas. Se han planteado varios caminos a través de los cuales ocurre esta interacción, el más importante es la unión covalente entre el arsénico y los aniones tiol de las cisteínas espacialmente favorables y del lipoato formando anillos mercáptidos (Jernelöv et al., 1978).

El hecho de que el arsénico indujo alteraciones desde la primera hora de tratamiento implica que es un elemento que se comporta como un agente de efecto no retardado y junto con la presencia de los tres tipos de aberraciones,

indica que tiene un comportamiento S-independiente (Kihlman, 1963; Kihlman et al., 1978).

Además, el arsénico produce alteraciones a nivel de la región centromérica, originando los cromosomas con el centrómero inactivado (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini, 1983) o bien provocando la ruptura transversal, originando los isocromosomas (Ramanna y Natarajan, 1966; Nicoloff y Gecheff, 1976; Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini, 1983). En ambos casos los cromosomas quedan fuera de la cinética normal de la anafase, ya que no se integran a los núcleos hijos y posteriormente darán origen a células aneuploides, debido a la pérdida o adición de cromosomas, y a micronúcleos en interfase.

La presencia de estos cromosomas desde las primeras horas de tratamiento y en todos los casos, indica que el arsénico tiene una acción directa y rápida sobre el centrómero en las diferentes etapas del ciclo celular.

En general, la frecuencia de aberraciones obtenidas siempre fue mayor que la de los cromosomas con el centrómero inactivado e isocromosomas, lo cual implica que el daño a nivel del centrómero fue menor que en el resto del cromosoma.

Por otro lado, Levan (1945) menciona que una excesiva viscosidad y aglutinamiento del citoplasma son dos fenómenos que se presentan en Allium cepa y Triticum vulgare al ser tratados con diversos agentes, los cuales forman puentes pegajosos a los que no se le han asociado fragmentos y son producidos por el aglutinamiento del citoplasma impidiendo la separación de los cromosomas (cromosomas pegajosos), un efecto semejante fué observado en los cromosomas de Vicia faba con el arsénico.

También, el arsénico causó alteraciones alteraciones al huso mitótico, que se manifestó como efecto c-mitótico (semejante al que produce la colchicina) y como anafases multipolares, formándose más de dos grupos de cromosomas lo que da como resultado la reducción del número cromosómico (Levan, 1938).

El huso está constituido por microtúbulos, los cuales son el resultado de la polimerización lineal de las moléculas de tubulina que se unen una con otra dando lugar a una fibra. Los enlaces entre las moléculas de proteínas son de

tipo disulfuro (S-S) y a su vez los microtúbulos se agrupan paralelamente entre sí por puentes de hidrógeno (Brachet, 1975). Otros constituyentes del huso son los polisacáridos, los lípidos y el ARN (Mazia, 1961).

Empleando la luz polarizada, se ha observado que el huso mitótico es una estructura que tiene fibras de dos tipos: cromosómicas que van de uno de los polos a los centrómeros y continuas, que van de uno a otro polo de la célula (Bajer, 1961).

Se ha descrito que los metales pesados tienen gran afinidad por los grupos sulfhídricos (Bacq, 1946) y al interaccionar ambos se originan cambios en los procesos de intercambios celulares (Oehlkers, 1949).

El arsénico se une a los grupos sulfhídricos de las proteínas, ya que tiene gran afinidad por ellos, sobre todo el estado trivalente, impidiendo de esta manera la formación del huso mitótico por lo cual los cromosomas no pueden alinearse en la placa ecuatorial dando lugar a las c-metafases.

Otro criterio adecuado para determinar el daño genético producido por los agentes tanto físicos como químicos es la prueba de micronúcleos en células interfásicas, que son la expresión en interfase de los fragmentos acéntricos (Revell, 1953; Heddle, 1973) y de los cromosomas retardados (Schmid, 1973, 1975) los cuales no son transportados por el huso a los polos quedando excluidos de los núcleos hijos. Su tamaño y número varía de acuerdo al tamaño y número de rompimientos que sean inducidos por la sustancia (Ma, 1979).

Aunque en este estudio los micronúcleos no presentan un comportamiento claro, esta prueba puede ser empleada como un criterio rápido, al menos en la raíz de Vicia faba para determinar si un agente ya sea físico o químico induce daño cromosómico.

Otro parámetro adecuado para conocer el efecto causado por un agente es el índice mitótico (I.M.). Se ha mostrado que tanto los agentes físicos (Evans et al., 1959) como los químicos (Kihlman, 1966; Kovacs y Van't Hof, 1971) producen inhibición de la división celular.

En este caso el arsénico bloquea la división celular y se ha visto que esta es alterada por la acción de los agentes, los cuales pueden influir en ciertos procesos como son la entrada de las células en mitosis, la formación

del huso funcional y la citocinesis. Los agentes que impiden la entrada de las células en mitosis bloquean la división celular del núcleo y de los cromosomas, así como la separación de las cromátidas, pero no necesariamente suprimen la replicación cromosómica. También esta inhibición puede ser debida al efecto de las sustancias en los diferentes estados de la interfase, ya que puede actuar en  $G_1$  ó  $S$  impidiendo la replicación y la división de los cromosomas, mientras que los que actúan en  $G_2$  solamente afectan la separación de las cromátidas (Kihlman, 1966).

La inhibición de la síntesis del ADN, comunmente provoca que la división celular no se lleve a cabo (Edmunds, 1964). Entre los agentes que afectan al ADN y a su metabolismo están los que impiden que la síntesis se realice y los precursores del ADN así como los que modifican su estructura (Kihlman, 1966).

También, se ha determinado que es importante la síntesis de proteínas para el paso de las células de  $G_2$  a mitosis (Webster y Van't Hof, 1970).

El arsénico actúa suprimiendo la respiración y la fosforilación oxidativa (Ochoa, 1941; Sanadi et al., 1959; Jernelöv et al., 1978) y se ha indicado que los inhibidores de estos dos procesos impiden la mitosis, tanto en células vegetales (Amoore, 1961) como en animales (Epel, 1963).

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

En este trabajo ambos estados de oxidación (pentavalente y trivalente) produjeron un decremento en la división celular con respecto al testigo, sobre todo en las concentraciones mayores y probablemente esta disminución fue consecuencia de la muerte celular provocada por las alteraciones cromosómicas.

En este estudio el arsénico no tuvo efecto estimulante, no obstante de que se ha descrito que algunos compuestos arsenicales en dosis subtóxicas incrementan la división celular (McCabe et al., 1983). Sin embargo, se observa que el índice mitótico para cada una de las sales fue menor al testigo, pero con el arsenito de potasio el I.M. es mayor en comparación con el arseniato de

sodio, lo cual se explica por el hecho de que se utilizaron concentraciones menores para el arsénico trivalente que para el pentavalente. En dosis similares el arsenito resultó ser más citotóxico, excepto en la concentración de 0.0001 M en donde la frecuencia de divisiones celulares fué la misma que para el arseniato de sodio en 0.0001 M en el cual no hubo una diferencia significativa con respecto al testigo, en cambio para el arsenito si la hay.

También, el efecto del arsénico se debe al hecho de que entra fácilmente a las células utilizando el sistema de transporte de los fosfatos y sulfatos (Jung y Rothstein, 1965). Además de que se ha demostrado que los compuestos arsenicales perturbaban las membranas celulares incrementando su permeabilidad o produciendo cambios conformacionales y bioquímicos en ella.

Mucho del daño que causa el arsénico se debe a su semejanza con el fosforo, el cual es un elemento esencial en los procesos biológicos, ya que ambos pertenecen a la misma familia en la tabla periódica. Además se ha visto que la química de ambos es similar en muchos pasos, especialmente cuando se tienen sistemas aerados, y sobre todo el arseniato se parece más estrechamente al ortofosfato (Walsh et al., 1977).

Por otro lado, se ha observado que el fosfato del ADN es reducido en presencia del ion arseniato, el cual probablemente es incorporado dentro de la cadena en lugar del fosfato, ocasionando gran inestabilidad, debido a que el arsénico es un átomo más grande que el fosforo, de tal manera que las uniones entre las bandas sean débiles lo que implica que estarían expuestas más fácilmente a rompimientos (Rosen, 1971; Petres et al., 1970, 1977; Jernelöv et al., 1978).

Esta posible sustitución es apoyada por los resultados de Da Costa (1971), que muestran la propiedad de los compuestos arsenicales de inhibir el crecimiento es reducida en presencia de fosfato, y también por los diferentes estudios en los que se ha observado la absorción del arseniato en lugar del fosfato, esto ocurre principalmente en aquellos ambientes en los que la concentración de fosfato es baja tal y como se presenta en las aguas trópicas en donde las algas absorben y metabolizan arseniato (Benson y Summon, 1981).

Tal vez, la acción del arsenito en mayor grado se deba a que reacciona

con gran cantidad de sitios activos, sobre todo a nivel enzimático ya que bloquea los grupos sulfhidrilos, en cambio el arseniato tiene muy poca afinidad por los grupos hidroxilo y tiol no obstante, inhibe todos aquellos procesos en los que están implicados los radicales fosfato los que, como ya se mencionó anteriormente, pueden ser reemplazados y alterar de esta manera la secuencia de los mecanismos naturales.

El arsénico es un agente genotóxico potencial, principalmente en su estado trivalente, ya que suprime la síntesis y los mecanismos de reparación (Sibatini, 1959; Jung y Trachsel, 1970; Sram y Bencko, 1974; Rossman et al., 1975, 1977; Jernelöv et al., 1978; Nakamuro y Sayato, 1981) y esto tal vez se debe a que bloquea los grupos tiol los cuales juegan un papel importante en las enzimas que están implicadas en ambos mecanismos, como lo es principalmente la ADN-polimerasa y/o también por su incorporación en lugar del fosfato en los nucleótidos durante la síntesis del ADN (Petres et al., 1970). Además, inhibe la síntesis de proteínas y en menor grado la del ARN (Nakamuro y Sayato, 1981).

En algunas Ciudades como Taiwan (Tseng et al., 1968), U.S.A. (Goldblatt et al., 1963), Canadá (Grantham y Jones, 1977), Chile (Zaldivar, 1974), Argentina (Argüello et al., 1939; Trelles et al., 1970) y México (González et al., 1972; Sánchez de la Fuente, 1976) se ha encontrado que el nivel de arsénico en el agua de consumo es elevado. Este contenido de arsénico ha ocasionado que en lugares como en Santa Cruz Achichipilco, Municipio de Teotlalco, Estado de Puebla (González et al., 1972) y en algunas partes de la Comarca Lagunera, Coahuila (Chávez et al., 1964; Sánchez de la Fuente, 1976) se hayan detectado problemas de arsenicismo crónico, el cual se ha considerado como endémico de estas regiones.

En la Región Lagunera han sido afectados tanto animales (Torres de Navarro, 1976) como seres humanos (Ortiz et al., 1963; Cantellano et al., 1964) cuyas lesiones se van manifestando en diferente tiempo de acuerdo con la edad de las personas.

La concentración de arsénico en el agua de uso en el Poblado El Cantabro en Torreón Coah., fué elevada (0.3 ppm), siendo el límite permisible de

0.05 ppm. El contenido varía de un pozo a otro en una misma área y aún en el mismo pozo de acuerdo con la época del año.

Su existencia en los mantos acuíferos puede ser tanto natural como antropogénica. En esta región el primer caso se debe a que la Comarca Lagunera se encuentra en un substrato rico en arsénico (S.S.A./S.M.A., 1977), teniendo como consecuencia que el nivel de este elemento en el agua sea elevado.

También, su presencia en el agua es debida a que esta es una zona predominantemente algodonera, en donde se emplean pesticidas y defoliantes arsenicales (S.S.A./S.M.A., 1977), los cuales probablemente llegan hasta el manto freático a través de la lixiviación del suelo, el que está formado principalmente por rocas calizas (Latorre et al., 1981) que son muy permeables y de esta manera contaminan el agua de los pozos.

Los pesticidas arsenicales inorgánicos y óxidos de arsénico una vez que son incorporados al suelo estos revierten a arseniatos, excepto cuando se tienen condiciones reducidas, este ion tiene propiedades similares al ortofosfato por lo cual compite por los sitios de adsorción en el suelo (Walsh et al., 1977).

De los resultados citogenéticos del estudio realizado in situ con el agua de este poblado se observa, que tienen un comportamiento semejante al obtenido con la dosis menor de arseniato de sodio, por lo que se puede inferir que tal vez la forma de arsénico contenido en el agua sea la pentavalente, y se ha visto que este es el estado predominante en las aguas naturales. Sin embargo, la cantidad de arsénico presente en el agua contaminada (0.3 ppm) no corresponde con la concentración menor de arseniato de sodio, que es más alta (21 ppm). No obstante, a esta diferencia se nota que la frecuencia de alteraciones en ambos casos es similar (Tabla 8), ya que los que se esperaba es que esta fuese más baja.

Esto indica que no únicamente hay arsénico en el agua sino que también se encuentran altas concentraciones de otros agentes potencialmente peligrosos como es el plomo, cloruros, entre otros (SARH, 1986), por lo cual la acción atribuida inicialmente al arsénico a nivel genético no puede asociarse con

certeza, ya que se sabe que el efecto de la exposición simultánea a sustancias tóxicas en mezcla puede ser sinérgico o antagonista.

Una manera de tener formas de arsénico menos peligrosas es tomando en cuenta las condiciones de oxidación-reducción prevalecientes en el medio, ya que bajo situaciones reducidas estables predominan el arsénico elemental y la arsenamina ( $AsH_3$ ), en cambio en condiciones menos reducidas se encuentra el arsenito y si hay suficiente aereación éste es oxidado a arseniato (Walsh et al., 1977).

Por último, es importante conocer el estado de oxidación del arsénico en las diferentes situaciones en donde se utiliza, debido a que la toxicidad de éste elemento depende de la forma química que esté actuando, y se ha determinado que el trivalente inorgánico es más tóxico que el pentavalente, no obstante ambos estados se consideran igualmente peligrosos para los organismos, ya que diferentes proporciones de uno u otro producen distinto grado de toxicidad.



## REFERENCIAS

- Ahmed, Z.U. y Walker, G.W.R. (1972). Studies on the effect of urethane, selenocystine and sodium monohydrogenarsenate on crossing over in the X-chromosome of Drosophila melanogaster. Can. J. Genet. Cytol. 14, 719.
- Amoore, J.E. (1961). Dependence of mitosis and respiration in roots upon oxygen tension. Proc. R. Soc. B. 154, 109-129.
- Andersen, O. (1983). Effects of coal combustion products and metal compounds on sister chromatid exchange (SCE) in a macrophogelike cell line. Environ. Health Perspect. 47, 239-253.
- Argüello, R.A., Cenget, D.D. y Tello, E.E. (1939). Cancer and regional endemic chronic arsenicism. Br. J. Derm. 51, 548.
- Arnason, T.J., El-Sadeck, L.M. y Minocha, J.L. (1966). Effects of some variations of treatment methods on mutation frequency in barley treated with some monofunctional alkylating agents. Can. J. Genet. Cytol. 8, 746-755.
- Axelson, O. (1980). Arsenic compounds and cancer. J. Toxicol. Environ. Health 6, 309-315.
- Axelson, O., Dahlgreen, E., Jansson, C.D. y Rehnlund, S.O. (1978). Arsenic exposure and mortality: a case-referent study from a Swedish copper smelter. Brit. J. Ind. Med. 35, 8-15.
- Azzone, S.R. y Ernster, L. (1961). Compartmentation of mitochondrial phosphorylation as disclosed by studies with arsenate. J. Biol. Chem. 236, 1510.
- Bacq, Z.M. (1946). Substances thiolooprives. *Experientia* 2, 349.
- Baetjer, A.M., Levin, M.L. y Lilienfeld, A.M. (1974). Analysis of mortality experience of Allied Chemical plant-2000 Race St., Baltimore, Md. Unpublished report submitted to Allied Chemical Corp., Morrestonen, N.J., July 16 (quoted from NIOSH, 1975).
- Bajer, A. (1961). A note on the behaviour of spindle fibers at mitosis.

Chromosoma 12, 64-71.

- Baroni, C., van Esch, G.J. y Saffiotti, V. (1963). Carcinogenesis test of two inorganic arsenicals. Arch. Environ. Health 7, 668-674.
- Barsega, R. (1968). Biochemistry of the cell cycle: A review. Cell Tissue Kinet. 1, 167-191.
- Béaudoin, A.R. (1974). Teratogenicity of sodium arsenate in rats. Teratology 10, 153-158.
- Beckman, G., Beckman, L. y Nordenson, I. (1977). Chromosome aberrations in workers exposed to arsenic. Environ. Health Perspect. 19, 145-146.
- Bencko, V. (1977). Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of arsenic. Environ Health Perspect. 19, 179-182.
- Bencko, V., Nejdilý, K. y Somora, J. (1968). Histological examination of some organs after the peroral administration of arsenic to hairless mice. Cs. Hyg. 13, 344.
- Bencko, V. Symon, K., Chládek, V. y Pihrt, J. (1977). Health aspects of burning coal with a high arsenic content. II. Hearing changes in exposed children. Environ. Res. 13, 386-395.
- 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.
- Benson, A.A. y Summon, R.E. (1981). Arsenic accumulation in Great Barrier Reef invertebrates. Science 211, 482-483.
- Blot, W.J. y Fraumeni, J.F. Jr. (1975). Arsenical air pollution and lung Cancer. Lancet 2, 142-144.
- Boutwell, R.K. (1963). A carcinogenicity evaluation of potassium arsenite and arsanic acid. J. Agr. Food Chem. 11, 381-385.
- Brachet, J. (1975). Introduccion a la embriología molecular. H. Blume, Madrid, pp. 125-128.
- Braman, R.S. y Foreback, C.C. (1973). Methylated forms of arsenic in the

- environment. Science 182, 1247-1249.
- Brock, N., Druckrey, H. y Herken, R. (1939). Uber kerngifte und cytoplasmogifte. Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol. 193, 674-687.
- Burgdorf, W., Kurvink, K. y Cervenka, J. (1977). Elevated sister chromatid exchange rate in lymphocytes of subjects treated with arsenic. Human Genet. 36, 69-72.
- Burk, D. y Beaudoin, A.R. (1977). Arsenate-induced renal agenesis in rats. Teratology 16, 247-259.
- Byron, W.R., Bierbower, G.W., Brouwer, J.B. y Hansen, W.H. (1967). Pathologic changes in rats and dogs from two-year feeding of sodium arsenite or sodium arsenate. Toxicol. Appl. Pharmacol. 10, 132-147.
- Cantellano, A.L., Viniegra, G., Eslava, G.R. y Alvarez, A.J. (1964). El arsenicismo en la Comarca Lagunera. Salud Publ. Méx. 6, 375-385.
- Charbonneau, S.M., Spencer, K., Bryce, F. y Sandi, E. (1978). Arsenic excretion by monkeys dosed with arsenic-containing fesh or with inorganic arsenic. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 20, 470-477.
- Charbonneau, S.M., Tam, G.K.H., Bryce, F., Zawidzka, Z. y Sandi, E. (1979). Metabolism of orally administered inorganic arsenic in the dog. Toxicol. Lett 3, 107-113.
- Chávez, A., Pérez, H.C., Tovar, E. y Garmilla, M. (1964). Estudios en una comunidad con arsenicismo crónico endémico. II. Manifestaciones clínicas. Salud Publ. Méx. 6, 432-435.
- Cmarko, V. (1963). Hygienic problems of arsenic exhalations of ENO plant (in Slovak). Cs. Hyg. 8, 359-362.
- 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 permanents. Stain Technol. 28, 281-283.
- Cordier, S., Theriout, G. y Iturra, H. (1983). Mortality patterns in a population living near a copper smelter. Environ. Res. 31, 311-322.
- Crafts, A.S. y Rosenfels, R.S. (1939). Toxicity studies with arsenic in eighty

- California soils. *Halgardis* 12, 117.
- Crane, R.K. y Lipman, F. (1953). The effect of arsenate on aerobic phosphorylation. *J. Biol. Chem.* 201, 235-243.
- Crecelius, E.A. (1977). Changes in the chemical speciation of arsenic following ingestion by man. *Environ. Health Perspect.* 19, 147-150.
- Crecelius, E.A., Bothner, M.H. y Carpenter, R. (1975). Geochemistries of arsenic, antimony and related elements in sediments of Puget Saund. *Environ. Sci. Technol.* 9, 325-333.
- Crema, A. (1955). Distribution et élimination de l' arsenic 76 chez la souris normale et cancéreuse. *Arch. Int. Pharmacodyn* 103, 57-70.
- Cunningham, C.E., Eastman, P.J. y Govern, M. (1952). Potato vine killing methods as related to rate of kill, vascular discoloration and virus disease spread. *Am. Potato J.* 29, 8
- Da Costa, E.W.B. (1971). Suppression of the inhibitory effects of arsenic compounds by phosphate. *Nature (London), New Biol.* 231, 32.
- D'amato, F. (1949). Prophase poisoning by chemical agents. *Caryologia* 1, 327-328.
- Dang, H.S., Jaiswal, D.D. y Somasundaram, S. (1983). Distribution of arsenic in human tissues and milk. *Sci. Total Environ.* 29, 171-175.
- 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.
- Duck, N.W. y Himus, G.W. (1951). Arsenic coal and its mode of occurrence. *Fuel* 30, 267-272.
- Ducock, H.S., Neal, W.B., Straube, R.L., Jacobson, L.O. y Brues, A.M. (1948). Biological studies with arsenic<sup>76</sup>. II. Excretion and tissue localization. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 69, 548-554.
- Du Pont, O., Ariel, I. y Warren, S.L. (1941). The distribution of radioactive arsenic in the normal and tumor-bearing (Brown-Pearce) rabbit.

- Amer. J. Syph. Gon. Vener. Dis. 26, 96-118.
- Dutkiewicz, T. (1977). Experimental studies on arsenic absorption routes in rats. Environ. Health Perspect. 19, 173-177.
- Edmunds, L.N. (1964). Replication of DNA and cell division in synchronously dividing cultures of Euglena gracilis. Science 145, 266-268.
- Ehlers, G. (1974). Klinische und histologische Untersuchungen zur Frage arzneimittelbedingter arsen-tumoren. Z. Haut. Geschlk. 43, 763-774.
- Eiji, H. (1955). Infant arsenic poisoning by powdered milk. Nihon iji shimpo No. 1649: 3 (1965); EPA translation No. TR105-74.
- El-Sadek, L.M. (1972). Mitotic inhibition and chromosomal aberrations induced by some arylarsonic acids and its compounds in roots tips of maize. Egypt. J. Genet. Cytol. 1, 218-224.
- 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. 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.
- Ferm, V.H. (1972). The teratogenic effects of metals on mammalian embryos. Advan. Teratol. 5, 51-75.
- Ficsor, G. y Piccolo, G.M. (1972). Survey of pesticides for mutagenicity by the bacterial plate assay method. EMS News, 6, 6-8.
- Fiertz, U. (1965). Katamnestische Untersuchungen über die Nebenwirkungen

der Therapie mit anorganischem Arsen bei Hautkrankheiten.  
*Dermatologica* 131, 41-58.

- Fishbein, L. (1979). Potential industrial carcinogens and mutagens.  
L. Fishbein (Ed.) Elsevier. Nueva York.
- Fisher, D.L. (1982). Cultured rat embryo accumulation of DNA, RNA and protein following maternal administration of sodium arsenate. *Environ. Res.* 28, 1-9.
- Fluharty, A.L. y Sanadi, D.R. (1961). On the mechanism of oxidative phosphorylation. *J. Biol. Chem.* 236, 2772-2778.
- Fong, K., Lee, F. y Bockrath, R. (1980). Effects of sodium arsenite on single-strand DNA break formation and post-replication repair in *E. coli* following UV irradiation. *Mutat. Res.* 70, 151-156.
- Förstner, U. y Wittman, G.T.W. (1981). Metal pollution in the aquatic environment. 2nd ed., p. 52. Springer-Verlag, Berlin.
- Fowler, B.A., Woods, J.S. y Schiller, C.M. (1977). Ultrastructural and biochemical effects of prolonged oral arsenic exposure on liver mitochondria of rats. *Environ Health Perspect.* 19, 197-204.
- Friedrich, E. G. Jr. (1972). Vulvar carcinoma in situ in identical twins-an occupational hazard. *Obstet. Gynec.* 39, 837-841.
- Frost, D.V. (1967). Arsenicals in biology-retrospect and prospect. *Fed. Proc. Fed. Am. Socs. Exp. Biol.* 26, 194-208.
- Galy, P., Touraine, R., Brune, J., Roudier, P. y Gallois, P. (1963). Le cancer pulmonaire d' origine arsénicale des vigneronns du Beaujolais. *J. Fr. Med. Chir. Thorac.* 17, 303-311.
- Geyer, L. (1898). Über die chronischer Hautveränderungea beim arsenicismus und Betrochtungen über die massenerkrankungen in Reichenstein in Schlesica. *Arch. Derm. Syph.* 43, 221-280.
- Ginsburg, J.M. (1965). Renal mechanism for excretion and transformation of arsenic in the dog. *Am. J. Physiol.* 208, 832-840.
- Ginsburg, J.M. y Lotspeich, W.D. (1963). Interrelations of arsenate and phosphate transport in the dog kidney. *Am. J. Physiol.* 205, 707-714.

- Goldblatt, E.L., Vandenburg, A.S. y Marsland, R.A. (1963). The usual and widespread occurrence of arsenic in well waters of Lane County, Oregon. Oregon Department of Health.
- Goldman, A.L. (1973). Lung cancer in bowen's disease. Amer. Rev. Resp. Dis. 108, 1205-1207.
- Gómez-Arroyo, S. (1980). Efectos cromosómicos del tñner y algunos de sus principales componentes en Vicia faba. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Gómez-Arroyo, S. y Villalobos-Pietrini, R. (1983). Chromosomal alterations induced by some chromium salts. Cytologia 48, 185-193.
- González, A.C., Hernández-Arreortúa, H. , Guzmán, J.B. y Mora, J.R.F. (1972). Arsenicismo crónico en una comunidad rural y subdesarrollada. Rev. Investigación Salud Pública 32, 82-88.
- Gordon, J.J. y Quastel, J.H. (1948). Effects of organic arsenicals on enzyme systems. Biochem. J. 42, 337-350.
- Grantham, S.A. y Jones, J.F. (1977). Arsenic contamination of water wells in Nova Scotia. J. Amer. Water Works. Assoc. 69, 653-657.
- Headlee, A.J.W. y Hunter, R.G. (1953). Elements in coal ash and their industrial significance. Ind. Eng. Chem. 45, 548-551.
- 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.
- Henry, F.T. y Thorpe, T.M. (1980). Determination of arsenic (III), arsenic (V), monomethylarsonate and dimethylarsinate by differential pulse polarography after separation by ion exchange chromatography. Analytical Chem. 52, 80-83.
- Hill, A.B. y Fanning, E.L. (1948). Studies on the incidence of cancer in a factory handling inorganic compounds of arsenic. I. Mortality experience in the factory. Brit. J. Industr. Med. 5, 1-6.

- Hood, R.D. y Bishop, S.L. (1972). Teratogenic effects of sodium arsenite in mice. *Arch. Environ. Health* 24, 62-65.
- Hood, R.D. y Harrison, W.P. (1982). Effects of prenatal arsenite exposure in the hamster. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 29, 671-678.
- Hueper, W.C. (1960). Cancer hazards from natural and artificial water pollutants. En: *Proc. Conf. Physiological Aspects of Water Quality*, Washington, D.C. September 8-9, pp. 181-193.
- Hueper, W.C. (1966). Occupational and environmental cancers of the respiratory system. Springer-Verlag, Nueva York. pp. 28-38.
- Hueper, W.C. y Payne, W.W. (1962). Experimental studies of metal carcinogenesis chromium, nickel, iron, arsenic. *Arch. Environ. Health* 5, 445-462.
- Hunter, F.T., Kip, A.E. y Irvine, J.W. Jr. (1942). Radioactive tracer studies on arsenic injected as potassium arsenite. I. Excretion and localization in tissues. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 76, 207-220.
- Hutchinton, J. (1888). On some examples of arsenic-keratosis of the skin and of arsenic-cancer. *Trans. Pathl. Soc. (Londres)* 39, 352-363.
- IARC. (1973). Arsenic and inorganic arsenic compounds. En: *Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man*. International Agency for Research on Cancer, Lyon, Vol 2, pp. 48-73.
- IARC. (1980). *Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*. International Agency for Research on Cancer, Lyon, Vol 23.
- Ivankovic, S., Eisenbrand, G. y Preussmann, R. (1979). Lung carcinoma induction in BD-rats after a single intratracheal instillation of an arsenic-containing pesticide mixture formerly used in vineyards. *Int. J. Cancer* 24, 786-788.
- James, L.F., Lazor, V.A. y Binns, W. (1966). Effects of sublethal doses of certain minerals on pregnant ewes and fetal development. *Am. J. Vet. Res.* 27, 132-135.



- Jašíňska, M., Zechafo, A. y Szymczark, J. (1965). Obsah arsénic V potravinách z okali dolu ha arzén vé zlatém stoku. Cs. Hyg. 10, 227.
- Jennette, K.W. (1981). The role of metals in carcinogenesis: biochemistry and metabolism. Environ Health Perspect. 40, 233.
- Jernelöv, A., Beijer, K. y Söderlund, L. (1978). General aspects of toxicology. En: Principles of Ecotoxicology. G. C. Butler, Ed. Wiley.
- Jung, C. y Rothstein, A. (1965). Arsenate uptake and release in relation to the inhibition of transport and glucolysis in yeast. Biochem. Pharmacol. 14, 1093-1112.
- Jung, E.G. y Trachsel, B. (1970). Molekularbiologische Untersuchungen zur Arsencarcinogenese. Arch. Klin. Exp. Dermatol. 237, 819-826.
- Jung, E.G., Trachsel, B. y Immich, H. (1969). Arsenic as an inhibitor of the enzymes concerned in cellular recovery. Germ. Med. Mth. 14, 614.
- Kanematsu, N., Hara, M. y Kada, T. (1980). Rec assay and mutagenicity studies on metal compounds. Mutat. Res. 77, 109-116.
- Kharab, P. y Singh, I. (1985). Genotoxic effects of potassium dicromate, sodium arsenite, cobalt chloride and lead nitrate in diploid yeast. Mutat. Res. 155, 117-120.
- 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 Cell. Prentice Hall, Nueva Yersey.
- 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 Chromosome. 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.

- Klaassen, C.D. (1974). Biliary excretion of arsenic in rats, rabbits, and dogs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 29, 447-457.
- Klumpp, D.W. y Peterson, P.J. (1979). Arsenic and other trace elements in the waters and organisms of an estuary in SW England. *Environ. Pollut.* 19, 11-20.
- Kovacs, C.J. y Van't Hof, J. (1971). Mitotic delay and the regulating events of plant cell proliferation: DNA replication by a G<sub>1</sub>/S population. *Radiat. Res.* 48, 95-106.
- Kroes, R., van Logten, M.J., Berkvens, J.M., de Vries, T. y van Esch, G.J. (1974). Study on the carcinogenicity of lead arsenate and sodium arsenate and on the possible synergistic effect of diethyl-nitrosamine. *Food Cosmet. Toxicol.* 12, 671-679.
- Kunze, G.W. (1966). Pesticides and clay minerals. En: *Pesticides and their effects on soils and water (ASA Special Publ. No. 8)*, Soil, Science America. Inc., Madison, Wise.
- Kuratsune, M., Tokudome, S., Shirakusa, T., Yoshida, M., Tokumitsu, Y., Hayano, T. y Seita, M. (1974). Occupational lung cancer among copper smelters. *Int. J. Cancer* 13, 552-558.
- Lafontaine, N. y Firket, H. (1972). Variations, en fonction du cycle cellulaire, du délai mitotique induit par irradiation de cultures BHK21. *Int. J. Radiat. Biol.* 22, 607-611.
- Lanz, H. Jr., Wallace, P.C. y Hamilton, J.G. (1950). The metabolism of arsenic in laboratory animals using As<sup>74</sup> as a tracer. *Univ. Calif. Publ. Pharmacol.* 2, 263-282.
- Larramendy, M.L., Popercu, N.C. y DiPaolo, J.A. (1981). Induction by inorganic metal salts of sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in human and syrian hamster cell strains. *Environ. Mutagen.* 3, 597-606.
- Latorre, C.D., Lesser, J.M.I., Quijano, L.L. y Payne, B.R. (1981). Isotopos ambientales aplicados al estudio de la interconexion de los

- acuíferos calizos y de rellenos en la Región Lagunera de Coahuila Durando, México. En: Interamerican Symposium on Isotope Hydrology, Bogota Colombia, Agosto 18-22, 1980, pp. 135-148.
- Lee, A.M. y Fraumeni, J.F. Jr. (1969). Arsenic and respiratory cancer in man: An occupational study. J. Natl. Cancer Inst. 42, 1045-1052.
- Léonard, A. y Lauwerys, R.R. (1980). Carcinogenicity, teratogenicity and mutagenicity of arsenic. Mutat. Res. 75, 49-62.
- Levan, A. (1938). The effects of colchicine in root mitosis en Allium. Hereditas 24, 471-486.
- Levan, A. (1945). Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. Nature 156, 751-752.
- Liebig, G.F. Jr., Bradford, G.R. y Vanselow, A.P. (1959). Effects of arsenic compounds on citrus plants in solution culture. Soil Sci. 88, 342.
- Lindberg, S.E., Adrews, A.W., Raridon, R.J. y Fulkerson, W. (1975). Mass balance of trace elements in walker branch watershed. The relation to coal fired steam plants. Environ Health Perspect. 12, 9-18.
- Löfroth, G. y Ames, B.N. (1978). Mutagenicity of inorganic compounds in Salmonella typhimurium: arsenic, chromium and selenium. (abstr.) Mutat. Res. 53, 65-66.
- Luh, M.D., Baker, R.A. y Henly, D.E. (1973). Arsenic analysis and toxicity. A review. Sci. Total Environ. 2, 1-12.
- Luten, J.B., Riekwel-Boay, G. y Rauchbaar, A. (1982). Occurrence of arsenic in plaice (Pleuronectes platessa), nature of organo-arsenic compound present and its excretion by man. Environ. Health Perspect. 45, 165-170.
- Ma, T.H. (1979). Micronuclei induced by X-rays and chemical mutagens in meiotic pollen mother cells of Tradescantia. Mutat. Res. 64, 307-313.

- Mabuchi, K., Lillienfeld, A.M. y Snell, M.L. (1979). Lung cancer among pesticide workers exposed to inorganic arsenicals. Arch. Environ. Health 34, 312-319.
- Mappes, R. (1977). Versuche zur Ausscheidung von arsen im Urin. Int. Arch. Occup. Environ. Health 40, 267-272.
- Matthess, G. (1981). In situ treatment of arsenic contaminated ground-water. Sci. Total Environ. 21, 99-104.
- Mazia, D. (1961). Mitosis and physiology of cell division. En: The Cell. J. Brachet y A.E. Mirsky (Eds.), Vol III. Nueva York: Academic Press, Inc, 1961, p. 350.
- McCabe, M., Maguire, D. y Nowak, M. (1983). The effects of arsenic compounds on human and bovine lymphocyte mitogenesis in vitro. Environ. Res. 31, 323-331.
- Mc Donald, P., Edwards, R.A. y Greenhalgh, J.F.D. (1975). Animal Nutrition. 2a Ed., Loughmans, Londres, p. 426.
- Mealy, J. Jr., Brownell, G.L. y Sweet, W.H. (1959). Radioarsenic in plasma, urine, normal tissues, and intracranial neoplasms. Arch. Neural Psychiatr. 81, 310-320.
- Meďvedová, H. y Cmarko, H. (1974). Some results of the observation of morbidity of 0-15-year-old children in the area polluted by industrial exhalation (in Slovak). Cs. Hyg. 19, 142-148.
- Miles, J.R.W. (1968). Arsenic residues in agricultural soils of south western Ontario. J. Agr. Food Chem. 16, 620-622.
- Milham, S. Jr. y Strong, T. (1974). Human arsenic exposure in relation to a copper smelter. Environ. Res. 7, 176-182.
- Milner, J.E. (1969). The effect of ingested arsenic on methylcholanthrene-induced skin tumors in mice. Arch. Environ. Health 18, 7-11.
- Mueller, G.C. (1969). Biochemical events in the animal cell cycle. Fed. Proc. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol. 28, 1780-1789.
- Nakamuro, K. y Sayato, Y. (1981). Comparative studies of chromosomal aberrations induced by trivalent and pentavalent arsenic. Mutat.

Res. 88, 73-80.

- NAS. (1977). Medical and biological effects of environmental pollutants. Arsenic. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- Neubauer, O. (1947). Arsenical cancer: A review. *Brit. J. Cancer* 1, 192-251.
- Nicoloff, H. y Gecheff, K. (1976). Methods of scoring induced chromosome structural changes in barley. *Mutat. Res.* 34, 233-244.
- Nishioka, H. (1975). Mutagenic activities of metal compounds in bacteria. *Mutat. Res.* 31, 185-189.
- Nordenson, I., Beckman, G., Beckman, L. y Nordström, S. (1978). Occupational and environmental risks in and around a smelter in northern Sweden. II. Chromosomal aberrations in workers exposed to arsenic. *Hereditas* 88, 41-50.
- Nordenson, I., Salmonsson, S., Brun, E. y Beckman, G. (1979). Chromosome aberrations in psoriatic patients treated with arsenic. *Human. Genet.* 48, 1-6.
- Nordenson, I., Sweins, A. y Beckman, L. (1981). Chromosomal aberrations in cultured human lymphocytes exposed to trivalent and pentavalent arsenic. *Scand. J. Work. Environ. Health* 7, 277-281.
- Nygren, A. (1949). Cytological studies of the effects of 2,4-D, MCPA and 2,4,5-T on Allium cepa. *Ann. Roy. Agr. Coll. (Suecia)* 16, 723-728.
- Ochoa, S. (1941). "Coupling" of phosphorylation with oxidation of pyruvic acid in brain. *J. Biol. Chem.* 138, 751-773.
- Oehlkers, F. (1949). Mutation saulsösung durch chemikalien. *Heidelberg Akad. Wiss.* 9, 373-400.
- Oehme, F.W. (1972). Mechanisms of heavy metal toxicities. *Cli. Toxicol.* 5, 151-167.
- Okui, T. y Fujiwara, Y. (1985). Effects of inorganic arsenic compounds on DNA repair and UV-induced mutagenesis. (Abstr.) *Mutat. Res.* 147,

271-27 .

- Oppenheim, J.J. y Fishbein, W.N. (1965). Induction of chromosome breaks in cultured human leukocytes by potassium arsenite, hydroxyurea and related compounds. *Cancer Res.* 25, 980-985.
- Ortiz, M.C., Olivera, T.R. y Verduzco, E.G. (1963). Intoxicación colectiva por arsénico en Torreón Coah. México. II. Valoración final. *Bol. Epidemiológico (México)*. 27, 220-252.
- Osburn, H.S. (1957). Cancer of the lung in Gwanda. *Cent. Afr. J. Med.* 3, 215-223.
- Osswald, H. y Goerttler, K. (1971). Arsenic-induced leukoses in mice after diaplacental and postnatal application. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 55, 289-293.
- Ott, M.G., Holder, B.B. y Gordon, H.L. (1974). Respiratory cancer and occupational exposure to arsenicals. *Arch. Environ. Health* 29, 250-255.
- Pagano, G., Esposito, A., Bove, P., de Angelis, M., Rota, A., Vamvakinos, E. y Giordano, G.G. (1982). Arsenic-induced developmental defects and mitotic abnormalities in sea-urchin development. *Mutat. Res.* 104, 351-354.
- Paton, G.R. y Allison, A.C. (1972). Chromosome damage in human cell cultures induced by metal salts. *Mutat. Res.* 16, 332-336.
- Penrose, W.R., Conacher, H.B.S., Black, R., Meranger, J.C., Miles, W., Cunningham, H.M. y Squires, W.R. (1977). Implications of inorganic/organic interconversion on fluxes of arsenic in marine food webs. *Environ. Health Perspect.* 19, 53-59.
- Peoples, S.A. (1964). Arsenic toxicity in cattle. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 111, 644-649.
- Peoples, S.A. (1975). Review of arsenical pesticides. En: Arsenical Pesticides (ACS Symp. Series No 7), E.A. Woolson, Ed., American Chemical Society, Washington, D.C. .
- pershagen, G. (1978). Lung cancer mortality, occupational exposure and

smoking habits in a region surrounding a smeltery. En: Proceeding from an international symposium on the control of air pollution in the working environment, Stockholm, September, 6-8, 1977. pp. 370-387.

- Pershagen, G. (1981). The carcinogenicity of arsenic. Environ. Health Perspect. 40, 93-100.
- Pershagen, G., Lind, B. y Björklund, N.E. (1982). Lung retention and toxicity of some inorganic arsenic compound. Environ. Res. 29, 425-434.
- Peterková, R. y Puzanová, L. (1976). An effect of tri- and pentavalent arsenic on the early development of chicken embryos. Folia Morphol. 24, 5.
- Peters, R.A. (1955). Biochemistry of some toxic agents. Bull. Johns Hopkins Hosp. 97, 1-20.
- Peters, R.A., Sinclair, H.M. y Thompson, R.S.H. (1946). An analysis of the nutrition of pyruvate oxidation by arsenicals in relation to the enzyme theory of vesication. Biochem. J. 40, 516-524.
- Petres, J. y Hundeiker, M. (1968). "Chromosomenpulverisation" nach arsen-einwirkung auf zellkulturen in vitro. Arch. Klin. Exptl. Dermatol. 231, 366.
- Petres, J. y Berger, A. (1972). Zum Einfluss anorganischen Arsens auf die DNA-Synthese menschlicher Lymphozyten in vitro. Arch. Dermatol. Res. 242, 343-352.
- Petres, J., Schmid-Ullrich, K. y Wolf, U. (1970). Chromosomen aberrationen an menschlichen Lymphozyten bei chronischen Arsen-schäden. Deut. Med. Wschr. 95, 79-82.
- Petres, J., Baron, D. y Hagedorn, M. (1977). Effects of arsenic cell metabolism and cell proliferation. Cytogenetic and biochemical studies. Environ. Health Perspect. 19, 223-227.
- Pinto, S.S. y Bennett, B.M. (1963). Effect of arsenic trioxide exposure on mortality. Arch. Environ. Health 7, 583-591.

- Pinto, S.S., Enterline, P.E., Henderson, V. y Varner, M.O. (1977). Mortality experience in relation to a measured arsenic trioxide exposure. *Environ. Health Perspect.* 19, 127-130.
- Pomroy, C., Charbonneau, S.M., McCullough, R.S. y Tam, G.K.H. (1980). Human retention studies with  $^{74}\text{As}$ . *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53, 550-556.
- Ramanna, M.S. y Natarajan, A.T. (1966). Chromosome breakage induced by alkyl-alkane-sulfonates under different physical treatment conditions. *Chromosoma* 18, 44-59.
- Rasmuson, A. (1985). Mutagenic effects of some water-soluble metal compounds in a somatic eye-color test system in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 157, 157-162.
- Ratsch, H.C. (1974). Heavy metal accumulation in soil and vegetation from smelter emissions. National Environmental Research Center, EPA Ecological Res. Ser. EPA 660/3-74-012.
- Rencher, A.C., Carte, M.W. y Mckee, D.W. (1977). A retrospective epidemiological study of mortality at a large western copper smelter. *J. Occup. Med.* 19, 754-758.
- Revell, S.H. (1953). Chromosome breakage by X-rays and radiomimetic substance in *Vicia*. Symposium on chromosome breakage. *Hereditas* 6, (Suppl.) 107-124.
- Robson, A.O. y Jelliffe, A.M. (1963). Medicinal arsenic poisoning and lung cancer. *Brit. Med. J.* 2, 207-209.
- Rosen, P. (1971). Theoretical significance of arsenic as a carcinogen. *J. Theor. Biol.* 32, 425-426.
- Rossmann, T.G. (1981a). Effect of metals on mutagenesis and DNA repair. *Environ. Health Perspect.* 40, 189-195.
- Rossmann, T.G. (1981b). Enhancement of UV-mutagenesis by low concentration of arsenite in *E. coli*. *Mutat. Res.* 91, 207-211.
- Rossmann, T.G., Meyn, M.S. y Troll, W. (1975). Effects of sodium arsenite on



the survival of UV-irradiated Escherichia coli: Inhibition of a rec-A dependent function. Mutat. Res. **30**, 157-162.

Rossman, T.G., Meyn, M.S. y Troll, W. (1977). Effects of arsenite on DNA repair in Escherichia coli. Environ. Health Perspect. **19**, 229-233.

Rossman, T.G., Stone, D., Molina, M. y Troll, W. (1980). Absence of arsenite mutagenicity in E. coli and chinese hamster cells. Environ. Mutagen. **2**, 371-379.

Roth, F. (1958). Über den Bronchialkrebs arsengeschiedigter Winzer. Virchows Arch. Pathol. **33**, 119-137.

Sanadi, D.R., Langley, M. y White, F. (1959).  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase III. The role of thioactic acid. J. Biol. Chem. **234**, 183-187.

Sánchez de la Fuente, E. (1976). Arsenicismo crónico en la zona rural de la Comarca Lagunera. XXXIV Reunión Anual de la Asociación Fronteriza Mexicana-Estadounidense de la Salud Pública.

SARH. (1986). Residencia de la calidad del agua. Laboratorio Regional. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Delegación en el Estado de Durango (Cd. Lerdo).

Savory, J. y Fedor, F.A. (1977). Arsenic poisoning. En: Clinical Chemistry and Chemical Toxicology of Metals. S.S. Brown, Ed. Elsevier/ North-Holland, pp. 271-286.

Schmid, W. (1973). Chemical mutagen testing on in vivo somatic mammalian cells. Agents and Actions **3**, 77-85.

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

Schroeder, H.A. y Balassa, J.J. (1966). Abnormal trace metals in man: Arsenic. J. Chronic. Des. **19**, 85-106.

Sibatini, A. (1959). In vitro incorporation of  $^{32}\text{P}$  into nuclei acids of lymphatic cells. Expt. Cell. Res. **17**, 131.

S.M.A./S.S.A. (1977). Minuta de la Primera Reunión del Grupo Interinstitucional sobre el problema del arsenicismo en la Comarca Lagunera México: Subsecretaría del Mejoramiento del Ambiente/Secretaría de Salubridad y Asistencia.

- Smith, T.J., Crecelius, E.A. y Reading, J.C. (1977). Airborne arsenic exposure and excretion of methylated arsenic compounds. Environ. Health Perspect. 19, 89-93.
- Spiegel, M.R. (1970). Estadística. Serie de Compendios Schaum. Mc-Graw-Hill. México. pp. 168-171.
- Sram, R.J. y Bencko, V. (1974). A contribution to the evaluation of the genetic risk of exposure to arsenic. Cs. Hyg. 19, 308-315.
- Sunderman, F.W. (1979). Mechanisms of metal carcinogenesis. Biol. Trace Elements Res. 4, 63-86.
- Tam, K.H., Charbonneau, S.M., Bryce, F. y Lacroix, G. (1978). Separation of arsenic metabolites in dog plasma and urine following intravenous injection of <sup>74</sup>As. Anal. Biochem. 86, 505-511.
- Thiers, H. (1965). The 7th case of chronic arsenism in viniculturist of Beaujolais complicated by cutaneous degeneration with multiple foci. Lyon. Med. 214, 19.
- Tokudome, S. y Kuratsune, M. (1976). A cohort study on mortality from cancer and other causes among workers at a metal refinery. Int. J. Cancer 17, 310-317.
- Tomkins, D.J. y Grant, W.F. (1972). Comparative cytological effects of the pesticides menazon, metrobromuron and tetrachloroisophthalonitrile in Hordeum and Tradescantia. Can. J. Genet. Cytol. 14, 245-256.
- Torres de Navarro, E. (1976). Intoxicación arsenical en el ganado vacuno. Salud Publ. Méx. 18, 1037-1044.
- Trelles, R.A., Larghi, A. y Paez, J.P. (1970). El problema sanitario de las aguas destinadas a la bebida humana, con contenidos elevados de arsénico, vanadio y flúor. Instituto de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires.
- Tseng, W.P., Chu, H.M., How, S.W., Fong, J.M., Lin, C.S. y Yeh, S. (1968). Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan. J. Natl. Cancer Inst. 40, 453-463.
- U.S. Environmental Protection Agency. (1983). An assessment of the health

effects of arsenic. Review draft, June, Washington, D.C. : Office of Research and Development.

- Vahter, M. (1981). Biotransformation of trivalent and pentavalent inorganic arsenic in mice and rats. *Environ. Res.* 25, 286-293.
- Vahter, M. y Norin, H. (1980). Metabolism of  $^{74}\text{As}$ -labeled trivalent and pentavalent inorganic arsenic in mice. *Environ. Res.* 21, 446-457.
- Vallee, B.L., Ulmer, D.D. y Wacker, W.E.C. (1960). Arsenic toxicology and biochemistry. *Arch. Indust. Health* 21, 132-151.
- 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, cell populations in cultures roots of pea (*Pisum sativum*). *Radiat. Res.* 44, 700-712.
- Villalobos-Pietrini, R. (1965). Altraciones inducidas por los rayos X en los cromosomas de la raíz de *Vicia faba* I. Aspectos técnicos. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 29, 178-183.
- Wagner, S.L. y Weswig, P. (1974). Arsenic in blood and urine of forest workers. *Arch. Environ. Health* 28, 77-79.
- Walsh, L.M., Sumner, E. y Keeney, D.R. (1977). Occurrence and distribution of arsenic in soils and plants. *Environ. Health Perspect.* 19, 67-71.
- Walters, R.A. y Petersen, D.F. (1968). Radiosensitivity of mammalian cells. II. Radiation effects on macromolecular synthesis. *Biophys. J.* 8, 1487-1504.
- 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.
- Welch, K., Higgins, I., Oh, M. y Burchfiel, C. (1982). Arsenic exposure smoking, and respiratory cancer in copper smelter workers. *Arch. Environ. Health* 37, 325-335.

- Wells, J.D. y Elliott, J.F. (1971). Geochemical reconnaissance of the Cortez-Bugkhorn area, Southern Cortez mountains, Nevada, U.S. Geol. Surv. Bull. 1312, 1-18.
- Wolff, S. (1963). En: Radiation-induced chromosome aberrations. S. Wolff, Ed. Columbia University Press, Nueva York, pp. 111-112.
- Wullstein, L.H. y Snyder, K. (1971). Arsenic pollutants in the ecosystem. En: Proceeding of the second international cleau air congress. National Society for Cleau Air, Washington, D.C., 1971, pp. 295-301.
- Wu-Nan, W., Leiu, T.L., Chang, H.J., Wu, S.W., Yau, M.L. y Jan, K.I. (1981). Baseline and sodium arsenite-induced sister chromatid exchanges in cultured lymphocytes from patients with blackfoot disease and healthy persons. Human. Genet. 59, 201-203.
- Yeh, S. (1973). Skin cancer in chronic arsenicalism. Human Pathol. 4, 469-485.
- zachariae, H. (1972). Arsenik og cancerrisiko. Ugeskr. Laeg. 134, 2720-2721.
- Zaldivar, R. (1974). Arsenic contamination of drinking water and foodstuffs causing endemic chronic poisoning. Beitr. Pathol. 151, 384-400.
- Zanzoni, F. y Jung, E.G. (1980). Arsenic elevates the sister chromatid exchange (SCE) rate in human lymphocytes in vitro. Arch. Dermatol. Res. 267, 91-96.

TABLA 1

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR ARSENIATO DE SODIO 0.0001 M A DIVERSOS TIEMPOS DE TRATAMIENTO Y DE RECUPERACION

Trata- miento	Tiempo de recu- peración	Total de Anafases	Anafases Anormales	Aberraciones Totales	Fragmentos senci- llos do- bles		Puentes* sub- croma- tídicos			Cromosomas con el cen- trómero inactivado	Isocro- mosomas	Anafases Multipo- lares	Micronú- cleo**
(horas)	(horas)	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	0	523	7.05	4.02	3.44	.0	0.58	0	0	2.19	0.27	0.56	1.40
2	0	1205	8.87	6.40	3.77	0	0.45	2.17	0	0.81	0	1.65	1.87
3	0	1584	6.28	3.88	2.58	0	0.60	0.70	0	1.64	0.05	0.71	2.25
4	2	1224	4.86	2.79	1.72	0	0	1.07	0	1.29	0.21	0.57	1.55
4	14	1099	0.75	0.45	0	0.45	0	0	0	0.29	0	0	1.55
4	18	1931	6.54	5.00	3.73	0.44	0	0.66	0.17	1.07	0.03	0.43	1.45
4	42	1928	3.23	1.91	1.36	0.20	0	0.24	0.10	1.22	0	0.10	0.40
4	44	2065	5.25	1.96	0.18	0.17	0	1.00	0.60	2.47	0.34	0.48	3.85

\* Con y sin fragmentos

\*\* Se analizaron 2000 células en interfase para cada caso

TABLA 2

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR ARSENATO DE SODIO 0.001 M A DIVERSOS TIEMPOS DE TRATAMIENTO Y DE RECUPERACION

Trata- miento	Tiempo de recu- peración	Total de Anafases	Anafases Anormales	Aberraciones Totales	Fragmentos senci- llos	do- bles	Puentes* sub- croma- tídicos	senci- llos	do- bles	Cromosomas con el cen- trómero inactivado	Isocro- mosomas	Anafases Multiplo- lares.	Micronú- cleos**
(horas)	(horas)		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	0	1068	4.54	3.02	1.95	0	0	1.07	0	0.88	0.36	0.27	1.70
2	0	1306	8.49	4.93	3.30	0	0.27	1.36	0	2.08	0.47	1.00	2.52
3	0	1547	7.53	4.47	3.60	0	0.05	0.82	0	1.63	0.31	1.11	1.30
4	2	308	11.87	2.75	1.37	0	0	1.38	0	2.31	0.45	6.36	0.35
4	14	NO	HUBO		FIGURAS	MITOTICAS							1.55
4	18	2513	12.05	8.84	6.52	0.27	0	1.73	0.31	1.63	0.63	0.94	0.80
4	42	1678	2.92	1.43	0.99	0	0	0.15	0.29	1.36	0.06	0.06	1.12
4	44	1834	2.65	1.77	0.69	0.13	0	0.64	0.30	0.55	0.16	0.17	0.88

\* Con y sin fragmentos

\*\* Se analizaron 2000 células en interfase para cada caso.

TABLA 3

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR ARSENATO DE SODIO 0.01 M A DIVERSOS TIEMPOS DE TRATAMIENTO Y DE RECUPERACION

Trata- miento	Tiempo de recu- peración	Total de Anafases	Anafases Anormales	Aberraciones Totales	Fragmentos senci- llos do- bles		Puentes* sub- croma- tídicos			Cromosomas con el cen- trómero inactivado	Isocro- mosomas	Anafases Multipo- lares	Micronú- cleos **
(horas)	(horas)	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	0	763	7.86	6.12	3.67	0	0.08	2.36	0	0.53	0.08	1.13	1.85
2	0	547	10.46	7.51	5.11	0	0.33	2.07	0	1.87	0.59	0.48	2.37
3	0	NO	HUBO		FIGURAS		MITOTICAS						1.34
4	2	NO	HUBO		FIGURAS		MITOTICAS						1.18
4	14	NO	HUBO		FIGURAS		MITOTICAS						1.02
4	18	NO	HUBO		FIGURAS		MITOTICAS						0.90
4	42	884	5.14	3.91	1.65	0.33	0	1.22	0.70	1.23	0	0	1.22
4	44	287	4.77	3.44	1.77	0.41	0	0.64	0.62	1.03	0	0.29	1.54

\* Con y sin fragmentos

\*\* Se analizaron 2000 células en interfase para cada caso

TABLA 4

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR ARSENITO DE POTASIO 0.000001 M A DIVERSOS TIEMPOS DE TRATAMIENTO Y DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de Anafases	Anafases	Aberraciones	Fragmentos		Puentes*			Cromosomas	Isocro-	Anafases	Micronú-
			Anomales	Totales	senci- llos	do- bles	sub- croma- tídicos	senci- llos	do- bles	con el cen- trómero inactivado	mosomas	Multiplo- lares	cleos **
			%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	0	1677	7.72	4.83	3.64	0	0.07	1.12	0	1.83	0.04	1.02	1.40
2	0	532	9.09	8.54	6.29	0	0	2.25	0	0.33	0.11	0.11	0.35
3	0	1318	7.98	7.60	7.43	0	0.17	0	0	0.03	0.01	0.34	0
4	2	2524	4.80	3.18	2.30	0	0	0.88	0	1.43	0.11	0.08	2.69
4	14	1926	6.66	4.41	2.08	0.71	0	0.57	0.25	1.76	0.19	0.30	1.05
4	18	2589	1.00	0.84	0	0.61	0	0	0.23	0	0.14	0.02	1.10
4	42	1297	6.37	3.82	2.65	0	0	0.27	0.90	2.25	0.30	0	0.75
4	44	1746	3.64	1.91	1.29	0.43	0	0.19	0	1.52	0.08	0.13	0.65

\* Con y sin fragmentos

\*\* Se analizaron 2000 células en interfase para cada caso



TABLA 5

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR ARSENITO DE POTASIO 0.00001 M A DIVERSOS TIEMPOS DE TRATAMIENTO Y DE RECUPERACION

Tratamiento	Tiempo de recuperación	Total de Anafases	Anafases Anormales	Aberraciones Totales	Fragmentos sencillos	do-bles	Puentes* sub-cromatídicos	sencillos	do-bles	Cromosomas con el centrómero inactivado	Isocromosomas	Anafases Multipolares	Micronúcleos **
(horas)	(horas)		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	0	993	0.53	0	0	0	0	0	0	0.37	0	0.16	0
2	0	842	5.29	3.73	3.55	0	0.18	0	0	0.73	0.46	0.37	0.55
3	0	2295	4.26	3.05	2.57	0	0.17	0.31	0	0.88	0.04	0.29	2.35
4	2	1827	7.94	4.92	4.00	0	0	0.92	0	2.30	0.24	0.48	3.48
4	14	2378	9.13	6.71	4.53	0.13	0	1.75	0.30	1.80	0.03	0.59	0.85
4	18	2689	3.91	3.36	2.04	0.90	0	0	0.42	0.46	0.03	0.06	0
4	42	1576	6.14	4.22	2.17	0.14	0	1.34	0.57	1.10	0.39	0.43	0.40
4	44	1489	3.86	3.04	2.01	0.03	0	0.37	0.63	0.64	0.09	0.09	0.30

\* Con y sin fragmentos

\*\* Se analizaron 2000 células en interfase para cada caso

TABLE 6

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR ARSENITO DE POTASIO 0.0001 M A DIVERSOS TIEMPOS DE TRATAMIENTO Y DE RECUPERACION

Trata- miento	Tiempo de recu- peración	Total de Anafases	Anafases Anormales	Aberraciones Totales	Fragmentos		Puentes*			Cromosomas con el cen- trómero inactivado	Isocro- mosomas	Anafases Multiplo- lares	Micronú- cleos**
(horas)	(horas)	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	0	1143	10.22	5.40	4.48	0	0.05	0.86	0	2.91	0.42	1.50	2.15
2	0	707	9.58	3.44	3.13	0	0	0.31	0	1.90	0.69	3.55	3.20
3	0	542	11.53	4.62	4.02	0	0	0.60	0	3.92	0.54	2.45	0.93
4	2	NO	HUBO	FIGURAS		MITOTICAS							1.40
4	14	1217	6.00	2.95	1.44	0.12	0	1.12	0.26	2.17	0.32	0.57	1.70
4	18	1486	7.76	4.90	2.56	0.07	0	1.34	0.93	1.80	0.20	0.86	1.15
4	42	1213	8.75	4.36	2.52	0.54	0	1.18	0.12	3.49	0.20	0.69	1.35
4	44	1019	0.75	0.53	0	0.38	0	0.12	0.02	0	0	0.23	0.65

\* Con y sin fragmentos

\*\* Se analizaron 2000 células en interfase para cada caso

TABLA 8

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS INDUCIDAS POR ARSENICO EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba

Concen- tración	Total de Anafases	Anafases Anormales	Aberrraciones Totales	Cromosomas con el cen- trómero inactivado	Isocro- mosomas	Anafases Múltipo- lares	Micronú- cleos
ppm		%	%	%	%	%	%
<b>Arseniato de sodio</b>							
21	11559	5.35	3.30	1.37	0.11	0.56	1.79
208	10254	7.17	3.89	1.50	0.35	1.43	1.28
2080	2481	7.06	5.25	1.16	0.17	0.48	1.43
<b>Arseniato de potasio</b>							
0.14	13609	5.91	4.39	1.14	0.12	0.25	1.00
1.46	14089	5.14	3.63	1.04	0.16	0.31	1.00
14.61	7327	7.80	3.74	2.31	0.34	1.41	1.57
<b>Agua de pozo contaminada con arsénico</b>							
0.3	12430	4.54	2.70	1.48	0.22	0.14	1.18

TABLA 7

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES INDUCIDAS CON AGUA CONTAMINADA POR ARSENICO DEL EJIDO EL CANTABRO, COAHUILA A DIVERSOS TIEMPOS DE TRATAMIENTO Y DE RECUPERACION

Tratamiento	Tiempo de recuperación	Total de Anafases	Anafases Anormales	Aberraciones Totales	Fragmentos sencillos dobles		Puentes* sub-cromatídicos sencillos dobles			Cromosomas con el centrómero inactivado	Isocromosomas	Anafases Multipolares	Micronúcleos **
(horas)	(horas)		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	0	539	5.03	3.00	0.65	0	0.57	1.77	0	1.74	0.15	0.15	1.37
2	0	561	9.56	5.83	5.02	0	0	0.81	0	3.02	0.18	0.53	1.43
3	0	539	6.98	3.73	3.18	0	0	0.55	0	2.21	1.03	0	1.27
4	2	1574	4.31	3.49	1.33	0	0	2.16	0	0.69	0.06	0.07	2.23
4	14	2732	1.14	1.00	0.39	0	0	0.61	0	0	0.07	0.07	0.41
4	18	1808	1.11	0.54	0.11	0	0	0.38	0.04	0.53	0	0.04	0
4	42	2162	5.54	3.08	1.32	0.29	0	1.13	0.34	2.05	0.18	0.23	1.28
4	44	2515	2.65	0.96	0.65	0.04	0	0.19	0.08	1.57	0.12	0	1.45

\* Con y sin fragmentos

\*\* Se analizaron 2000 células en interfase para cada caso

TABLA 9

INDICES MITOTICOS OBTENIDOS CON ARSENICO EN LAS CELULAS  
MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE Vicia faba

Concentración ppm	Indice Mitótico
Arseniato de sodio	
0	11.30
21	11.13
208	7.77*
2080	3.91*
Arsenito de potasio	
0	15.95
0.14	14.31
1.46	14.32
14.61	11.12*
Agua de pozo contaminada con arsénico	
0	15.92
0.3	14.92

$z (\alpha 0.05) = 1.645$

\* efecto inhibidor

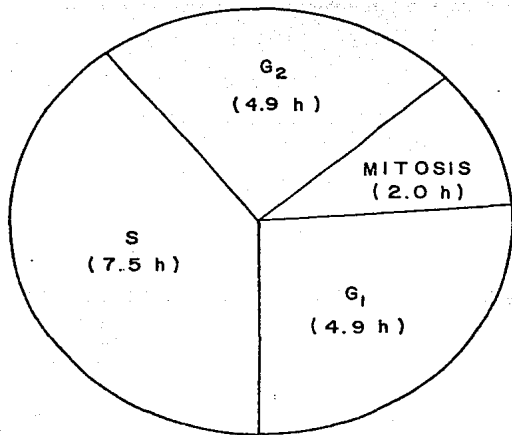


Fig. 1 CICLO CELULAR DE LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE Vicia faba A 19° C (EVANS Y SCOTT, 1964).

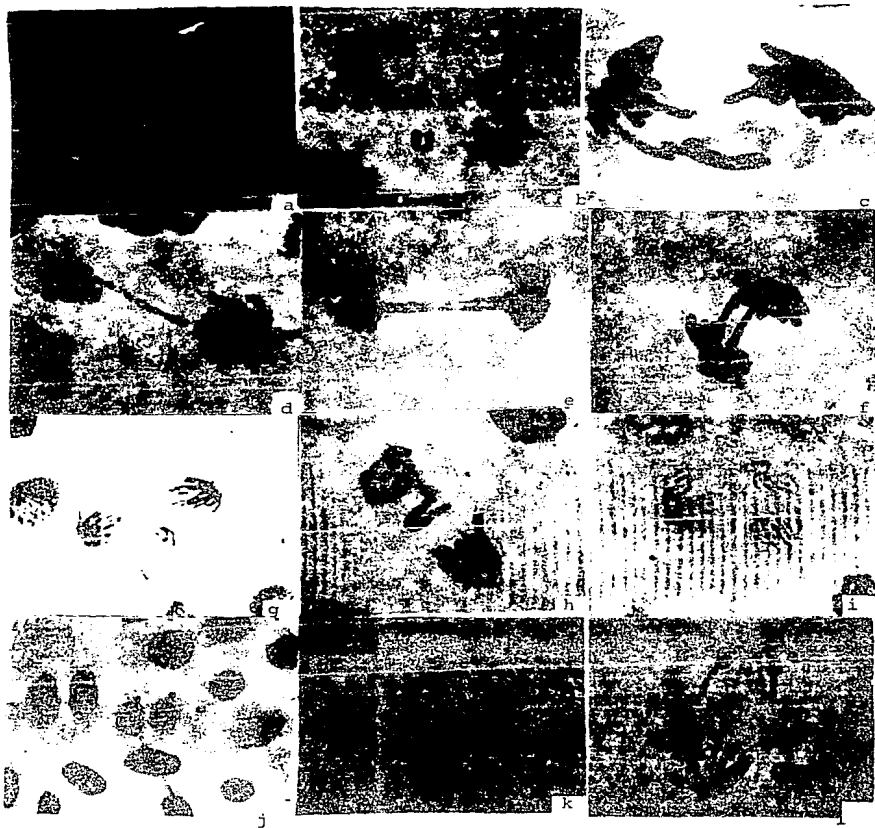


Fig. 2 Alteraciones inducidas por el arsénico en los cromosomas de *Vicia faba*. a-h,k y l células en anafase, j células en interfase. a, fragmento sencillo; b, fragmento doble; c, puente subcromatídico; d, puente sencillo; e, puente doble; f, 2 puentes sencillos con fragmento sencillo; g, 2 cromosomas con el centrómero inactivado; h, isocromosoma; i, anafase multipolar; j, micronúcleos; k, cromosoma con el centrómero inactivado, isocromosoma y 3 fragmentos sencillos; l, puente subcromatídico y cromosoma con el centrómero inactivado.

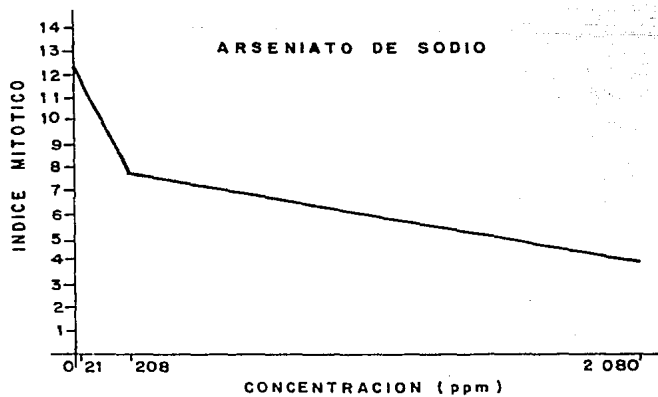
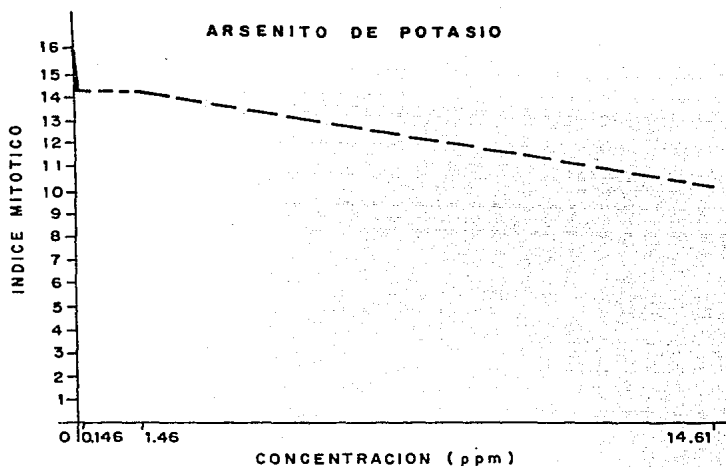


Fig. 3 INDICES MITOTICOS OBTENIDOS EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE Vicia faba TRATADAS CON ARSENICO