

7  
2ej.



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS  
PROFESIONALES  
ZARAGOZA**

**EFFECTO TERATOGENICO DEL  
DIAZINON EN RATAS  
PREÑADAS DE LA CEPA CIL-ZV**

**TESIS PROFESIONAL**

Que para obtener el Título de:  
**B I O L O G O**

**P R E S E N T A:**  
**MA. DEL CARMEN CAMACHO MANZANILLA**

México, D. F.

1989

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **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.

## C O N T E N I D O

RESUMEN.....	I
INTRODUCCION.....	1
MATERIAL Y METODO.....	25
RESULTADOS.....	29
DISCUCION Y CONCLUSIONES.....	33
TABLAS.....	46
FIGURAS.....	55
FOTOS.....	60
BIBLIOGRAFIA.....	66
ANEXO.....	79

## RESUMEN.

Se realizó en éste trabajo el estudio del efecto teratogénico del insecticida organofosforado diazinón en ratas preñadas de la cepa CII-2V.

Se efectuaron dos experimentos, cada uno con diferentes días de tratamiento.

En el experimento I , se trabajó con tres lotes de animales: un testigo absoluto (sin tratamiento), un testigo tratado con el vehículo (agua destilada), y el grupo tratado con el insecticida con una sola dosis 57.5mg/Kg de peso, durante dos días de la gestación, el día 5 y el día 10 de preñez y sacrificadas el día 20 .

En el experimento II, se trabajó de igual manera con tres lotes de animales: uno tratado con el vehículo (agua destilada), y los dos restantes con el insecticida con dos dosis diferentes 25 y 50 mg/Kg de peso respectivamente y sacrificadas el día 19 de gestación.

Los resultados obtenidos muestran que los efectos producidos por el insecticida son: la presencia de hernias umbilicales, así como de hematomas en diferentes partes del feto ( cabeza, abdomen, extremidades), en los grupos tratados

los días 9 y 11 de gestacion.

Sin embargo el mayor efecto producido en ambos experimentos fue: la falta de osificación en los fetos en diferentes zonas como; columna vertebral, mandíbula, región occipital del cráneo, arcos cervicales, así como otros centros de osificación analizados: miembros superiores, miembros inferiores, cadera, y esternón.

De acuerdo a los resultados obtenidos se llegó a la conclusión de que el diazinón actúa como una sustancia teratógena en fetos de rata tratadas durante los días más críticos de la gestación.

## EFEECTO TERATOGENICO DEL DIAZINON EN RATAS PREÑADAS DE LA CEPA CII-2V.

### Introducción

Desde el advenimiento del hombre, el desarrollo de la tecnología moderna ha provocado en el ambiente un cambio drástico en los elementos naturales al modificarse, tales como la constitución y calidad del agua, aire y suelo, influenciado principalmente por: la expansión urbana, defoliaciones provocadas por aspersiones químicas, industrias de transformación y centrales eléctricas que queman carbón y petróleo, etc, lanzando al medio gran cantidad de partículas contaminantes (16,19,83).

En condiciones naturales, los microorganismos que se encuentran en el suelo, y en el agua, así como la acción del arrastre de partículas por el agua y aire, se impide la acumulación de los contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos (16). Sin embargo cuando éstos ciclos son transformados al aumentar la concentración de elementos ajenos ó por la modificación del proceso natural de restauración, se presenta el problema de la contaminación (53,83).

Reynaga en 1997(75) definió a la contaminación como la presencia en la atmósfera de sustancias simples ó

conjugadas que perjudican al ser humano, la flora y la fauna y degradan la calidad del aire, agua y tierra.

En la actualidad existen en el ambiente aproximadamente 2800 sustancias químicas que son consideradas como contaminantes (30).

Este tipo de contaminantes se localizan alrededor de las áreas urbanas desarrolladas e industriales. Dentro de los compuestos y elementos más comunes que podemos encontrar están: el dióxido de carbono, hidrocarburos, fluoruros, asbestos, derivados fotoquímicos (12,19,30), metales pesados(77) y plaguicidas (12,19), entre otros.

Uno de los principales efectos de la contaminación es la reducción de la longevidad en el hombre, según la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos), sustancias como el dieldrín, el DDT, el clordano, el aldrín, los alquitranes de carbón y el formaldehído, entre otros, pueden producir cáncer en el hombre (19).

En 1975 el US COUNCIL ON ENVIRONMENTAL QUALITY (Consejo sobre la Calidad Ambiental en Estados Unidos), describió los índices de calidad del aire y los efectos sobre la salud humana del dióxido de azufre ( $SO_2$ ), el monóxido de carbono (CO), el ozono ( $O_3$ ), y el dióxido de nitrógeno ( $NO_2$ ). Los efectos de estas moléculas son principalmente:

la muerte prematura de personas enfermas y mayores de edad, en personas sanas síntomas adversos que afectan la actividad normal (19).

La acción de los diversos agentes contaminantes es por contacto directo sobre la piel, mucosas ó epitelios de revestimiento de las vías respiratorias y sistema digestivo, lo que provoca, diferentes trastornos por ejemplo: los metales pesados dañan la fosfatasa alcalina, secreciones hormonales, y de líquidos orgánicos como el intravascular, lo que conduce a un estado patológico, y en muchos casos a la muerte del individuo (75).

Los trabajos realizados acerca de los efectos de las exposiciones humanas a los agentes contaminantes, y las detecciones de éstos en el medio, ha sido una de las tareas más importantes en los últimos años, hecho que ha llevado a que se desarrolle la toxicología ambiental (35).

La toxicología ambiental es la ciencia que estudia la presencia y la acción en el organismo de sustancias tóxicas ambientales las cuales causan efectos dañinos al ser aplicado deliberadamente o accidentalmente (19,35).

Los estudios toxicológicos muestran que las principales vías de entrada de un tóxico a un individuo es por la piel, el sistema gastrointestinal y por los pulmones,



siendo la vía del tracto, respiratorio una de las más comunes para muchos agentes químicos, aunque afortunadamente para la mayoría de los casos es la menos grave. En muchas ocasiones la piel actúa como barrera, sobre la cual se llevan a cabo reacciones locales por el efecto de los compuestos, lo que provoca respuestas sistémicas importantes como: dermatitis, cambios de pigmentación, úlceras (35,57).

Cuando el tóxico entra por vía oral y llega al estómago e intestino, pasan a la sangre, y son llevados rápidamente hacia el hígado donde son metabolizados (35,57).

Cuando el tóxico se encuentra en la atmósfera en forma de partículas suspendidas éste será inhalado y llegará hasta los pulmones (35,57).

En éste caso al igual que en los anteriores, las propiedades fisicoquímicas de la sustancia tienen un papel importante en el proceso de intoxicación, aunque también hay que considerar: la concentración de la sustancia, tiempo de exposición a la que está expuesto el individuo, ventilación del ambiente, etc. (35,57,61).

La toxicidad de una sustancia se define como su capacidad para causar lesiones en la vida de un organismo.

Una sustancia que es altamente tóxica causa daño aún cuando se administre en pequeñas cantidades, por el

contrario, una sustancia de baja toxicidad produce muy poco efecto aún en cantidades grandes (18).

En la actualidad uno de los problemas más graves a la que se enfrenta el hombre es la alta proporción de enfermedades hereditarias, cáncer y malformaciones congénitas, que pueden ser atribuidos a la elevada incidencia de agentes químicos en el ambiente. De éstas las malformaciones congénitas están tomando mucha importancia, ya que se ha demostrado que de cada 100 niños que nacen, aproximadamente 5 padecen alguna malformación congénita (32).

Se les ha definido a las malformaciones congénitas como un defecto permanente anatómico, histológico, ó químico que no puede ser reparado por el crecimiento ó desarrollo del organismo y que está presente al nacer, aunque no se detecte inmediatamente después del nacimiento (20, 22,64).

La magnitud e importancia de éstos defectos varían de leves a insignificantes, compatibles con la vida hasta condiciones grotescas, incompatibles con la vida perinatal (5,48,81).

Muchas alteraciones en el desarrollo normal de animales, plantas y el hombre fueron observadas en diferentes partes del mundo. El nacimiento de algún niño defor-

me, así como anomalías presentes en animales, se consideraba que era provocado por fuerzas sobrenaturales ó malignas (32,40).

La teratología es la ciencia de la embriología patológica que estudia el desarrollo anormal y malformaciones congénitas en el embrión, e incluye no solamente el análisis de las anomalías ó malformaciones, sino que investiga los mecanismos de su origen (5,27,32,48).

Los agentes responsables en la producción de éstas malformaciones son llamados: agentes teratógenos, los cuales son capaces de inducir ó incrementar la incidencia de algún tipo de malformación congénita (5,22,26,27,38,39,69).

Los agentes teratógenos pueden ocasionar algún tipo de defecto congénito, la muerte intrauterina, ó ser responsable de bajo peso del individuo al nacimiento; según Fishbein (27) las posibles causas y mecanismos que conducen a la teratogénesis son los mostrados en la tabla I.

Los teratógenos pueden clasificarse en extrínsecos e intrínsecos.

Dentro de los factores extrínsecos se encuentran: las radiaciones; los rayos X (usados en diagnóstico) interfieren en el crecimiento del embrión, provocando la muerte de éste; ya que cada órgano ó tejido es sensible a la acción

teratógena de la radiación, cuando están en proceso de proliferación o diferenciación (5,11,81); los agentes infecciosos como los virus, los cuales llegan a los fetos por dos vías la hemática (transplacentaria), y amniótica (transovular) como el virus de la rubéola (5,20); sustancias químicas como medicamentos usados en la medicina por ejemplo: anestésicos generales y locales, antibióticos, antiprotozoarios, analgésicos no narcóticos, anticonvulsantes, anticoagulantes, diuréticos, hormonas, corticoesteroides, tranquilizantes, antidepresivos, entre otros (11,20,28); otros agentes como el alcohol el cual al ser ingerido durante el embarazo produce retraso en el crecimiento intrauterino y postnatal, la marihuana, el tabaco, drogas psicotrópicas, son igualmente peligrosas (11,28,64,79).

Dentro de los factores intrínsecos se encuentran los genéticos, como anomalías cromosómicas, el ambiente uterino, el estado nutricional y enfermedades metabólicas de la madre, que afectan el desarrollo del embrión (7,11,22, 24,25,43).

La acción teratógena de un agente depende del estado de desarrollo en el que se encuentra el embrión, después de la unión del óvulo y espermatozoide, la célula huevo se desarrolla para dar origen a un nuevo individuo, du-

rante éste desarrollo muchos eventos se llevan a cabo, algunos de ellos se prolongan postnatalmente pero la mayoría ocurre durante la embriogénesis (etapa que conduce a la formación de la mayoría de los órganos), que consiste en una serie de procesos sincronizados y precisos (48,81).

Durante el paso de cigoto a embrión, y de embrión a feto, muchos de éstos eventos son vulnerables a sufrir alteraciones, lo cual se va a manifestar como una malformación en el nuevo individuo (20,32,39,64) (tabla II).

Las alteraciones del desarrollo generalmente se han clasificado de acuerdo al momento en el cual aparecen por lo que es importante tomar en consideración los estadios por los que pasa el organismo en desarrollo, y en los que actúan los teratógenos. De ésta manera se les puede dividir en cuatro etapas del desarrollo (20,21):

A) Etapa de gametogénesis: en la cual se forman las células germinales masculinas y femeninas, pudiendo sufrir algún efecto adverso provocando: gametopatías, dando por resultado reducción en la fertilidad, disturbios bioquímicos ó fisiológicos, reducción en el número de células germinales en los machos, cambios en la morfología de los gametos produciendo mutaciones. En las hembras puede haber fracaso en la ovulación ó mutaciones en las células germinales dando

por resultado esterilidad, la muerte del embrión después de la fertilización ó la ocurrencia de anomalías en la descendencia (20,21).

B) Etapa de la segmentación: es el estadio en el que es posible la embriotoxicidad máxima. Las agregaciones provocadas hacia el organismo por algún agente teratógeno matan al blastocisto, pero si la acción nociva no es demasiado intensa el desarrollo puede producirse sin daños notables, pues los blastómeros poseen pluripotencialidad; también puede ocurrir que la implantación del blastocisto se evite o retrase; a éste tipo de alteraciones se les conoce como blastopáticas (20).

C) Etapa de la embriogénesis: tras la implantación y la ordenación de las hojas embrionarias, el embrión atravieza por el período de morfogénesis, en el cual se forman la mayoría de los órganos, éstas transformaciones son controladas por mecanismos inductores complejos y frágiles que pueden ser perturbados fácilmente produciéndose las malformaciones llamadas: embriopatías. Esta es la razón por la que se le considera la etapa de máxima sensibilidad teratogénica (20).

El estadio de desarrollo del embrión durante el cual actúa la sustancia teratógena determina el tipo de

malformación morfológica (20,21).

Cada órgano y cada sistema pasa por un período crítico, sin embargo además de la dependencia cronológica, los agentes teratógenos pueden tener afinidades preferentes por un sistema orgánico (Fig. 1).

D) Etapa fetal: es la fase de maduración y perfeccionamiento de los órganos constituidos durante la embriogénesis, el feto puede ser igualmente perturbado en su desarrollo (10, 20,21).

Dentro de las características que presentan las sustancias teratógenas hay que tomar en cuenta varios aspectos como: su peso molecular, grado de ionización, gradiente de concentración, dosis, etc (10,20,21).

El hombre como parte integrante del ambiente está directamente expuesto a una gran cantidad de sustancias químicas, las cuales representan un peligro potencial para él mismo y organismos en general considerándose incluso teratógenas, tal es el caso de los plaguicidas (9), los cuales debido a su uso desmedido y deliberada aplicación, han ocasionado que se acumulen en los ecosistemas y provocando la aparición de plagas más resistentes a los mismos (18).

Los plaguicidas se han utilizado principalmente para controlar y eliminar plagas vegetales y animales, y de

ésta forma detener la propagación de enfermedades y proteger los cultivos (18).

Sin embargo debido a la poca previsión del hombre a partir de la segunda guerra mundial y hasta la fecha han surgido problemas debido a la producción de algunos agentes químicos como los insecticidas (12,18,83).

Desde los albores de la civilización el hombre, ha luchado continuamente para mejorar sus condiciones de vida y en su afán de producir grandes cantidades de alimentos, ha combatido a las plagas que son causantes de numerosas pérdidas económicas en la agricultura, por lo que para éste fin buscó y creó una serie de agentes químicos capaces de combatir éstos organismos (17).

En el siglo XVIII el primer insecticida de origen natural empleado fue la nicotina, extraída de las hojas de tabaco; con éste insecticida es posible controlar el picudo del ciruelo y la chinche. Hacia 1850 se introdujeron dos insecticidas naturales más: la rotenona (extraída de la planta Herris elliptica), y el piretro (extraído de las flores de crisantemo) (17).

En el curso del siglo XIX se comenzaron a emplear materiales inorgánicos como: mezclas de azufre y cal (para combatir la roña de la manzana), el arseniato de cobre



impuro (para el control de la catarina de colorado), y el arseniato de plomo. Desde entonces se han desarrollado nuevos compuestos para eliminar las diversas plagas.

En los comienzos de los años veinte la amplia aplicación de los insecticidas arsenicales provocó la búsqueda de compuestos orgánicos menos peligrosos como el alquitrán, y aceite de petróleo (17).

La década de los años treinta marcó el comienzo de la era moderna de los insecticidas orgánicos sintéticos como: los organoclorados, organofosforados, carbamatos, etc (17).

Dependiendo de su modo de acción los insecticidas se han clasificado en dos grupos: los de contacto y los sistémicos.

Los de contacto son aquellos que logran pasar rápidamente através de los tejidos del insecto, después de un contacto íntimo con ellos sin que penetre en el sistema vascular de las plantas.

Los sistémicos son absorbidos por tallos, hojas, raíces de las plantas, de tal modo que se acumulan en concentraciones letales para los insectos que se alimentan de estas partes (17).

Los insecticidas al igual que muchos agentes químicos son de gran importancia en la toxicología, ya que se ha podido observar que algunos de ellos son: muy inestables y con un tiempo corto de permanencia en el medio y son muy tóxicos, mientras que otros, son menos tóxicos, pero muy persistentes provocando efectos ecológicos a largo plazo (17, 18, 41).

Muchos de los insecticidas pueden producir efectos graves como los mutagénicos, carcinogénicos, y teratogénicos (27, 36, 42, 66). Dentro de éstos grupos podemos mencionar a: los insecticidas organoclorados, y a los organofosforados, entre otros; muchos de ellos pueden actuar también en combinación produciendo en los organismos infertilidad, reducción de la viabilidad, alterar la gestación, etc (21).

Dentro de los insecticidas organoclorados más peligrosos están el DDT (diclorodifeniltricloroetano), el cual debido a su persistencia y a su afinidad por las grasas de los organismos, se acumula en las glándulas suprarrenales, testículo, tiroideas, así como hígado y riñones. Este hecho hace que se transmita y se vaya acumulando en las cadenas alimenticias en varios eslabones.

Cuando existe poca degradación por la acción biológica, se logra la permanencia del insecticida durante

muchos años en un estado activo inalterado, provocando un efecto tóxico en algunas plantas y animales (9,12,27,37, >9).

Algunos datos experimentales también han mostrado que en la rata es capaz de producir alteraciones en el sistema endocrino produciendo esterilidad (27).

En la actualidad los insecticidas de mayor empleo son los organofosforados, los cuales, presentan un conjunto apreciable de propiedades como son: no persistentes, se degradan rápidamente, y de mayor efecto contra los insectos (9,17,85).

Estos insecticidas se denominan organofosforados por poseer uno ó más átomos de fósforo químicamente unidos, ya sea directamente a los átomos de carbono de los radicales orgánicos ó indirectamente por medio de los átomos de oxígeno, nitrógeno ó azufre (9) (Fig.2).



R, R' = grupos radicales.

X = Oxígeno ó sulfuro

Y = grupos libres

P = fósforo

Figura 2.

En la fórmula de la figura 2, la sustitución de los grupos R y R' por grupos OR (radical orgánico), ori -

gina los ésteres del ácido fosfórico ó fosfatos.

Otras sustituciones como las del enlace P=O por el enlace P=S, originan los tionofosfatos; el grupo -OR por el grupo -SR los tiolfosfatos; los grupos -OR por grupo -NH<sub>2</sub> los amidofosfatos, etc (9).

Estos insecticidas tuvieron su origen en Alemania aproximadamente en 1930, siendo el paratión (O-O-diethyl-O-P-nitrofenilfosforotioato), el primer insecticida de amplia acción (17,34).

Se ha podido establecer que la toxicidad de éstos insecticidas en mamíferos es similar a la ejercida en insectos; esto es, un ataque irreversible a la enzima: acetilcolinesterasa, la cual, participa en la transmisión de los impulsos nerviosos, así como otras enzimas como la carboxilesterasas (3,46,55,58,63,84).

La enzima acetilcolinesterasa contiene dos sitios activos principales (Fig.3). El sitio aniónico el cual está cargado negativamente y donde se produce la unión de las partes catiónicas del sustrato (acetilcolina); el sitio esteérico que contiene el grupo alcohol primario (componente del aminoácido serina), el cual ataca al átomo de carbono del carbonilo electrofílico del sustrato (17).

En la figura 3A.1 se muestra la formación del complejo enzima-sustrato. Cuando se forma la enzima acetilada (fig.3A.2), ésta se hidroliza rápidamente en dos componentes: ácido acético y colina.

Si se detiene o inhibe el mecanismo de acción de la enzima (acetilcolinesterasa) se provoca la acumulación de acetilcolina (el sustrato), la cual es un tóxico muy fuerte y su exceso en el organismo provocaría la muerte.

Si a la acetilcolinesterasa se le presenta un sustituto de la acetilcolina, actúa sobre éste, y deja en libertad a la acetilcolina, la cual ejerce entonces su acción mortal (17,85).

Los insecticidas organofosforados actúan como inhibidores de la enzima presentándose como sustitutos del sustrato (acetilcolina),(Fig.3B), de tal manera que éstos compuestos bloquean a la enzima por fosforilación e impiden que se realice la hidrólisis de la acetilcolina (17,85).

La mayoría de los experimentos realizados en mamíferos y aves (1,3,36,46,55,58,60,62,67,78,80,84,86,87) utilizando éstos insecticidas han mostrado que producen neuropatías, atacando al sistema nervioso central (2); además reducen los procesos neurales de formación de axo-

nes y dendritas, e inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, además degeneración de fibras nerviosas; éstos insecticidas presentan también propiedades alquilantes como por ejemplo el diclorvos (DDVP), el cual es capaz de alquilar las bases de ADN en bacterias como Escherichia coli (6).

In vitro la gran mayoría de los insecticidas organofosforados que presentan el grupo P=S, tienen un potencial inhibitorio débil de la enzima acetilcolinesterasa; in vivo son muy activos, por su función mixta a oxidarse a sus correspondientes fosfatos P=O (2,17).

La toxicidad de éstos insecticidas depende en gran medida de la ruta metabólica que siga, como por ejemplo el malati6n, el cual es convertido a su an6logo oxigenado malaox6n por los insectos, siendo, 6ste muy activo, mientras que en mam6feros la acci6n de la carboxiesterasa remueve uno de los grupos etil terminal del malaaxon, dando origen a un metabolito de baja actividad (84).

La constituci6n de los derivados fosf6ricos guarda relaci6n con su comportamiento t6xico, de modo que al tomar en cuenta la  $LD_{50}$  = dosis letal media los compuestos en forma "oxo" (tabla III) tienen mayor toxicidad que en su forma "tiono" (tabla III) (9).

Este es el caso del fenitrotión (O,O-dimetil -O-(p-nitro-m-cresol) fosforotioato), cuyo análogo oxigenado es el fenitroxon (O,O-dimetil-O-(p-nitro-m-cresol)fosfato), es mucho más toxico que el compuesto del cual deriva (66,89).

En varios trabajos se ha reportado que las impurezas presentes en estos insecticidas son mucho más peligrosos que el compuesto mismo (84), así como sus metabolitos formados (3,62,89).

Además de su efecto toxicológico presentado por la mayoría de éstos insecticidas, también pueden producir alteraciones en la molécula de ADN (ácido desoxirribonucleico), aunque algunos resultados reportados a nivel mutagénico son muy contradictorios (65,78).

Nishio y Uyeki (65) mostraron in vitro que varios de éstos insecticidas organofosforados menos el diazinón, incrementan la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas, estableciendo que éste efecto es una característica común de éstos insecticidas.

Amer y Fahmy (6) probaron el insecticida organofosforado gardona, observando que incrementa la frecuencia de micronúcleos en médula ósea de ratón, evento que

muestra su potencial clastogénico en éstas células.

Por otro lado Njagi y Gopala (66) encontraron que el mismo insecticida (gardona) producía alteraciones cromosómicas en Vicia faba.

Por diferentes estudios se ha podido demostrar que éstos insecticidas tienen acción teratogénica (2,6, 27,36,58,62,70,86).

Dentro de los insecticidas organofosforados los más comunmente usados son: el paratión, malatión, diazinon (85), de los cuales el último merece especial atención principalmente por la constitución química de su molécula, ya que éste insecticida al entrar al organismo sufre varias oxidaciones en varias partes de su molécula por medio de las oxidasas microsómicas, dando productos atóxicos (60,85). Sin embargo no se ha demostrado los efectos que producen éstas oxidaciones en ratas gestantes, ya que a pesar de ser excretado rápidamente en orina y heces fecales, los elementos libres formados pueden seguir otra ruta dentro de los embriones en formación (10, 60,85).

El diazinón (O,O-C-(2-isopropil-4-metil-6-pirimidil fosforotioato), también conocido como basudín ó



exodín, es un insecticida no sistémico, de acción acaricida con alta persistencia, muy activo contra moscas, plagas terrestres de fruta, vegetales, raíces de coles y zanahorias, ataca plagas mayores como áfidos, larvas de la mosca en fruta, piojos frutales, así como también plagas caseras como hormigas (13,17,34,85,87); muy útil además contra insectos del ganado como los ectoparásitos, empleándose además en animales domésticos excepto aves.

El diazinón fue introducido por Ciba Geigy en 1952 se obtiene al condensar el etil acetoacetato y la isobutiramidina, el resultado es un líquido café pardo, con un punto de ebullición de 83 grados centígrados, densidad de 1.15 a 20 grados centígrados, soluble en agua, miscible en etanol, acetona, xileno, aceite de petróleo, la descomposición del compuesto ocurre a 20 grados centígrados, es estable en medios alcalinos, mientras que es lentamente hidrolizado por el agua y ácidos diluidos (17,49,50,85).

Estudios realizados en ratas demuestran que la  $LD_{50}$  está entre 300-850mg/Kg de peso (oral); variando estos datos de acuerdo a la vía de administración y cepa utilizada, siendo por vía subcutánea de 2.50mg/Kg de peso (37).

Mucke(60) al tratar ratas de ambos sexos con el diazinón observó que se excreta por diferentes rutas como la orina, en la cual se desecha un 69-80%, y en las heces fecales un 18-20% .

Sin embargo el diazinón resultó ser teratogénico en embriones de pollo al ser aplicado por vía intravitelina (60,67,80).

En los últimos años anfibios y peces han asumido gran importancia como modelos de estudio para la aplicación de diversas sustancias carcinogénicas, mutagénicas, y teratogénicas (29,70,74), sin embargo, la actividad de algunos agentes debe ser probado en ciertos animales considerando ciertas características como: ciclo estral, fertilidad, fisiología, respuesta a ciertas drogas en el porcentaje de malformaciones, siendo éstos parámetros importantes para la interpretación de los estudios (21,47,56).

Uno de los mamíferos más empleados en teratología es la rata, ya que presenta características únicas indispensables en los experimentos como son: alta fecundidad, baja proporción de malformaciones espontáneas, resistencia a enfermedades, conveniente tamaño de los fetos, así como un conocimiento amplio sobre su fisiología y reproducción

(10,21,56).

Su amplio uso en diferentes experimentos ha hecho que sea empleada como uno de los animales más adecuados para éste tipo de estudios, en los cuales se han establecido los efectos de diversas sustancias químicas como: metilmercurio (45), el clordiazepoxido (14,15), el 1,2,3,4 tetra - clorobenzeno (44), drogas (15,76), así como colorantes (71, 72,73).

## JUSTIFICACION.

Debido a la gran importancia que representa la exposición a compuestos químicos de uso común, como los insecticidas, y tomando en consideración la poca información que existe acerca del potencial teratógeno del diazinón en éste trabajo se pretende evaluar el efecto del diazinón sobre el desarrollo normal de los fetos de ratas tratadas durante la preñez.

## HIPOTESIS.

Sabiendo que muchos insecticidas organofosforados son capaces de alterar el desarrollo normal de los organismos se espera que al aplicar el diazinón a ratas preñadas se provoque la aparición de malformaciones y alteraciones esqueléticas en los fetos de rata.

**OBJETIVOS.**

- **Evaluar la embriotoxicidad producida por el diazinón.**
- **Determinar la frecuencia y tipo de malformaciones macróscopicas producidas por el insecticida en los fetos de ratas tratadas.**
- **Establecer la frecuencia y tipo de anomalías esqueléticas inducidas por el diazinón.**

## MATERIAL Y METODO.

Ratas hembras vírgenes de la cepa CII-SV, de tres meses de edad (190-200gr.), fueron mantenidas en el bioterio por dos semanas en cajas de plástico con un ciclo controlado de luz-oscuridad (14-10hrs), con libre acceso al agua y alimento.

El día de cruce dos hembras por caja fueron colocadas toda la noche con un macho de la misma cepa, la copulación fue verificada al día siguiente al observar en el frotis vaginal la presencia de esperma, el cual fue tomado como positivo, y como el primer día de preñez.

## GRUPOS EXPERIMENTALES Y GRUPOS CONTROL.

Las hembras con frotis vaginal positivo se pesaron diariamente asignandose al azar a los grupos testigo y los grupos experimentales.

## AGENTE QUIMICO.

El diazinón se obtuvo en su forma comercial (Helios (r) al 2%). Soluciones frescas fueron preparadas el día de su aplicación en solución acuosa (0.5ml. de diazinón

y 0.95ml. de agua). Las dosis empleadas se calcularon con base en la LD<sub>50</sub> reportadas (ajustando los calculos a la concentración comercial).

#### TRATAMIENTOS.

En todos los casos tanto el vehiculo (agua destilada), como el diazinon se aplicaron por via intraperitoneal, anestesiando previamente a las hembras con eter.

#### EXPERIMENTO I.

Se tomaron tres lotes de animales para este experimento asignandose: un testigo absoluto (sin tratamiento), otro al testigo tratado con el vehiculo (agua destilada), y el lote tratado con el diazinon a una dosis de 7.5mg/Kg de peso del animal.

Se realizaron dos aplicaciones de diazinon en el dia 7 y en el dia 10 de preñez, dejando que las hembras continuaran el proceso de gestación hasta el dia 20, en el cual fueron sacrificadas con una sobredosis de cloroformo.

Los fetos fueron extraidos a partir de una incisión de la pared abdominal de las hembras, secados con pa-

pel absorbente y pesados, realizándose el conteo de: los sitios de implantación y reabsorciones, una vez comprobada la viabilidad ( por estimulación de los animales), se revisaron para detectar el número y tipo de malformaciones anomalías externas o ambas.

Para poder tener un punto de comparación en cuanto a la posible relación entre la susceptibilidad de los fetos a los agentes químicos, se decidió realizar una serie de tratamientos los días 9 y 11 de gestación con dos dosis menores a las empleadas en el primer experimento 25 y 50mg/Kg de peso del animal de diazinón, además extra- yendo a los fetos un día antes que los primeros para tener un parámetro de comparación en cuanto a la influencia del diazinon sobre el desarrollo intrauterino de los fetos y el proceso normal de osificación.

#### EXPERIMENTO II .

Para este caso se tomaron tres grupos de animales, un testigo tratado con el vehículo ( agua destilada) y los dos restantes tratados con el diazinón, un grupo con 25mg/Kg, de peso y el otro con 50mg/Kg de peso del animal, la aplicación de las dosis se realizó durante dos días de la



gestación el 9 y el 11 día, dejando que las hembras continuaran el proceso de gestación hasta el día 19, en el cual fueron sacrificadas con una sobredosis de cloroformo.

Los fetos fueron extraídos a partir de una incisión de la pared abdominal de las hembras, secados con papel absorbente y pesados, realizándose el conteo de los sitios de implantación y número de reabsorciones. Una vez comprobada la viabilidad de los fetos se revisaron para detectar malformaciones número y tipo, anomalías externas o ambas.

En todos los experimentos se tomaron al azar las 3/4 partes de los fetos obtenidos por camada y se colocaron en etanol al 70% veinticuatro horas, después a cada feto se le extrajeron las vísceras, y el cuerpo se colocó en solución de KOH al 1%, veinticuatro horas más tarde los fetos fueron pasados a una solución fresca de KOH al 1%, con rojo de alizarina (500mg/100ml de KOH 1%), los cuales permanecieron por un día, transcurrido este tiempo los fetos fueron pasados a glicerina pura, y su posterior observación por medio del estereoscopio para analizar el número de anomalías esqueléticas.

Para el análisis de las muestras se emplearon las pruebas T de student y  $\chi^2$  con un nivel de significancia 5%.

## RESULTADOS.

### EXPERIMENTO I.

En la tabla IV se muestran los resultados de los efectos embriotóxicos producidos por el diazinón al ser administrado los días 7 y 10 de gestación, observando que existe un aumento significativo en el número de reabsorciones, tanto en el grupo testigo (inyectado con agua destilada) (5.12), como en el tratado con el insecticida (3.30), con respecto al testigo absoluto (0.0) con  $P < 0.05$ , mientras que ni el peso fetal, ni el número de fetos obtenidos por camada se vieron alterados por el diazinón.

Las alteraciones macroscópicas encontradas en el grupo tratado con el diazinón se muestran en la tabla V, donde se observó la ausencia de extremidades (1.33%) y la presencia de hematomas (2.66%) significativo con  $P < 0.05$  mientras que en los dos grupos testigo, éstos eventos no se observaron.

Para establecer el posible efecto del diazinón sobre el proceso de desarrollo esquelético se analizaron cuatro centros de osificación en los fetos (miembros superiores (MS) (foto 1); miembros inferiores (MI) (foto 2);

esternón (ES); y cadera (CA) (tabla VI ) , encontrando que en todos los casos la presencia de éstos se vió retrasada significativamente con respecto a los grupos testigo.

En la tabla VII se muestran los resultados del análisis del efecto del diazinon sobre el proceso de osificación en otras regiones del organismo como la columna vertebral ( foto 3 y 4 ), los arcos cervicales ( foto 5 ), la región occipital del cráneo y la mandíbula ( foto 6 y 7 ), observando que en todos los casos éste proceso se vió alterado en un 100% de los fetos, al ser comparados con los testigos (cualquier desviación observada en el proceso de osificación de los fetos tratados con el diazinón comparada con la presentada por los fetos del grupo testigo se consideró una alteración).

## EXPERIMENTO II.

En la tabla VIII se muestran los resultados de la embriotoxicidad del diazinón al ser aplicado los días 9 y 11 de gestación, encontrando que en el grupo tratado con el diazinón a una dosis de 25mg/Kg, mostró un incremento significativo con respecto al testigo (13.20 vs 7.60 con  $P < 0.05$ ) en el número de reabsorciones, mientras que en la concentración de 50mg/Kg la frecuencia de reabsorciones fue similar a la del testigo.

Las alteraciones macroscópicas observadas en éste experimento se muestran en la tabla IX, en donde se encontró el acortamiento de miembros, paladar hendido, hernias umbilicales y hematomas, teniéndose en el caso de las hernias umbilicales en el tratamiento de 25mg/Kg un aumento significativo con respecto al testigo (4.93% vs 0.00% con  $P < 0.05$ ), mientras que para los hematomas en la concentración más alta (50mg/Kg), también se observó un aumento significativo con respecto al testigo (10.71% vs 2.10% con  $P < 0.05$ ).

Por otro lado el efecto del diazinón sobre la presencia de los centros de osificación se muestra en la tabla X, encontrando que, al igual que en el experimento I

en los dos tratamientos realizados (25 y 50mg/Kg), el diazinón retrasó significativamente la aparición de éstos centros en todos los casos (MS,MI,ES,CA).

En la tabla XI, se muestran los resultados del efecto del diazinón sobre la osificación de la columna vertebral, los arcos cervicales, la región occipital del cráneo y la mandíbula, encontrando, que tanto en los tratamientos con 25mg/Kg como en el de 50mg/Kg se alteraron éstos procesos significativamente en todas las estructuras antes mencionadas, con respecto al testigo, desde un 90.24% de los fetos con alteración de la osificación en la mandíbula (50mg/Kg), hasta un 100% de los fetos con anomalías de éste proceso en columna vertebral en ambos tratamientos.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES.

Se calcula que del 3 al 5% de los recién nacidos presentan una ó más malformaciones, las cuales constituyen hoy en día una causa importante de la mortalidad y morbilidad principalmente en el período prenatal y en el curso de los primeros meses de vida (5,20,24).

Sin embargo se sabe que algunas de ellas, no son preceptibles en el momento del nacimiento, sino que se manifiestan más adelante, por lo que es posible que la incidencia de las malformaciones congénitas llegue hasta un 7-8% (20).

En el presente trabajo se incluyeron dos tipos de tratamiento con el insecticida ( 5 y 10 día, y 9 y 11 día de gestación), debido a que de ésta manera y basados en los datos conocidos del desarrollo embrionario de la rata (10), se procuró abarcar el período de implantación y organogenesis.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede observar en el primer experimento que la proporción de reabsorciones es mas elevada en el grupo testigo (agua destilada), que en el tratado con diazinón (tabla IV).

Este aumento que se presentó, en el grupo testigo

pudo ser debido a la manipulación que sufrió el animal al administrarse el agua destilada, ya que se sometió a las mismas condiciones con las que se trabajó en los animales tratados con diazinon (anestesia e inyección), por lo que de alguna manera esto pudo influir para que se presentaran estas reabsorciones; no obstante aunque el grupo tratado con el diazinon presenta una diferencia significativa con respecto al testigo absoluto, podemos decir que el diazinon no tiene efecto sobre la implantación y viabilidad de los embriones, ya que de igual manera el mismo proceso de manipulación pudo ser la causa de este efecto.

En el experimento II la proporción de reabsorciones es aun más elevada. Esto puede ser reflejo de las manipulaciones realizadas en dos de los días más críticos y sensibles para el desarrollo de los embriones (9 y 11 día de gestación) (Fig.4), teniendo que es en este período cuando el organismo empieza a desarrollarse, por lo que el efecto de alteraciones producidas por agentes exógenos puede ser mucho más marcado en estas etapas (tabla VIII).

Las alteraciones macroscópicas del experimento I (tabla V), muestran una diferencia significativa entre

los grupos testigo y el tratado con el insecticida en cuanto a la presencia de hematomas.

De la misma manera en el experimento II, los animales tratados con la dosis más alta presentaron diferencias aún más significativas con respecto al control ( tabla IX ) Este hecho nos puede indicar que el diazinón puede estar produciendo fragilidad en las paredes vasculares del embrión, y por tal motivo ocasionar la ruptura de los vasos sanguíneos (10).

La presencia de hernias umbilicales únicamente se observó en el segundo experimento (tabla IX). Se sabe que éste tipo de alteraciones son características, cuando se modifican algunas estructuras somáticas, originándose como un defecto de la línea media, debida a una falta de fusión de los primordios bilaterales (5,8).

Los resultados indican que el diazinón es capaz de alterar la cavidad peritoneal en los fetos, provocando que los tejidos de la pared abdominal se vuelvan débiles, y flácidos, originando la salida de las víceras del organismo.

Dentro de los estudios de teratología un útil indicador del desarrollo normal embrionario es el esque -



leto fetal , el cual es capaz de manifestar cambios producidos en el ambiente materno-uterino '22,24,25,88).

La formación de los diferentes centros de osificación de diversas estructuras esqueléticas, se realiza en diferentes etapas del desarrollo fetal, pudiendo ser monitoreado en detalle, con el uso de técnicas como la tinción de rojo de alizarina (88), la cual provee una medida clara y objetiva de comparación entre las alteraciones en el desarrollo producidas en los organismos, expuestos a algún tipo de agente exogeno en comparación con los animales normales.

Al evaluar la aparición de los centros de osificación en los diferentes grupos tratados (tablas VI y X ), en ambos experimentos se observó que la frecuencia de éstos centros disminuyó significativamente con respecto a los grupos control, por lo que podemos concluir que el diazinón es capaz de afectar éste proceso.

Al analizar el proceso de osificación de otras regiones del organismo, se encontró que en ambos experimentos las regiones más afectadas eran: la columna vertebral, los arcos cervicales, la region occipital del cráneo y la mandíbula (tablas VII y XI ).

aunque se conoce que la formación de algunos de los huesos faciales comienza en el día 16 de gestación ( como la mandíbula) y termina entre el día 19 y 20 (88), a - péndice 1 , se puede observar que la influencia del diazi - nón y sus metabolitos sobre éste proceso.

Los resultados obtenidos muestran que en los ani - males del experimento I, el décimo día fue el más suscep - tible al tratamiento con diazinón, debido a que casi to - das las estructuras óseas y los diversos órganos están co - menzando a formarse ó ya están en desarrollo; mientras que los animales del segundo experimento los días 9 y 11 ya son por si solos una etapa altamente sensible, ya que ha empezado la aparición de los somitas, las cuales están for - madas por dos paredes: la externa, que va a ser la que for - me el tejido conjuntivo de la piel, y la interna, que pro - duce el tejido esquelético, formado por el esclerotomo, dando lugar a las células mesenquimatosas, células que van a migrar al notocordio y médula espinal, envolviendo a éstos órganos, diferenciándose y originando el cartí - lago, formando los cuerpos y arcos neurales de las vérte - bras (8). La región de la cola y costillas tienen el mis - mo origen; por lo que la alteración de alguna de éstas

somitas por un agente exógeno (físico ó químico), podría producir la aparición de anomalías en el proceso de osificación (9,98).

La formación de hueso esta controlada por las células llamadas osteoblastos y osteocitos (33). Durante el proceso de calcificación la matriz orgánica del hueso queda impregnada de una sustancia inorgánica mineral llamada: apatita ( $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$ ), la cual se distribuye en forma lineal a lo largo de las fibras de colágena existentes.

Para la formación de este mineral deben estar presentes en cantidades suficientes los constituyentes iónicos calcio y fósforo, los cuales formaran partículas sólidas insolubles en forma de cristales, los cuales, crecen y se incrementan en número y tamaño, para que de esta manera se sature la matriz del hueso. Estos iones se encuentran presentes en forma soluble en suero y sangre (de 1.25 mM de calcio y 1 mM de fosfato) en condiciones normales (4,33,82).

Para su deposición en la matriz orgánica existen diversos factores involucrados como es la presencia de la enzima fosfatasa alcalina, la cual actúa en la hidrólisis de compuestos orgánicos preexistentes que contienen fosfa-

to, como los hexofosfatos y gliceratos, para producir la liberación de éste ión, el cual se solubiliza en sales de calcio existentes, para después producir su propia precipitación como fosfato de calcio (4,33).

En condiciones normales hay suficiente cantidad de iones calcio-fosfato en la sangre y tejido tisular para su precipitación; si el cartilago no contiene ésta enzima no puede ser calcificado (4,33).

Otro factor importante en la calcificación es la presencia de colágena, secretada por los osteoblastos; en donde las fibrillas de colágeno formada se depositan los cristales de apatita durante su precipitación (4,33).

En la matriz orgánica existen también otro componente orgánico importante: los proteoglicanos, los cuales están implicados en la regulación de los cristales de apatita, en su formación y crecimiento; éstas moléculas en cartilago se unen al calcio y lo liberan por degradación de enzimas proteolíticas, en donde éste ión se une al sitio activo nucleado del colágeno para la producción de los cristales de apatita (4,33).

Los fosfolípidos son otro factor importante en los procesos de mineralización, el tipo de lípidos invo-

lucrados en el proceso de calcificación son los fosfolípidos ácidos como la fosfatidilserina, son particularmente propensos a unirse al calcio y al fósforo, siendo los fosfolípidos buenos sitios de nucleación para la formación del mineral (4,33).

El último factor determinante en el proceso de calcificación son los pirofosfatos  $P_2O_7$ , los cuales actúan como inhibidores fisiológicos en el proceso de mineralización en los fluidos del cuerpo, inhibiendo la formación de cristales y su crecimiento (4,33,68).

Un mal funcionamiento de éstos procesos tiene importantes consecuencias patológicas, como podría ser la inhibición de la proliferación de las células osteoblasticas y osteocíticas, las cuales secretan la enzima antes mencionada (fosfatasa alcalina); este poder inhibitorio puede ser provocado por el diazinón, el cual se ha comprobado reduce la tasa de proliferación celular (índice mitótico) al ser aplicado en linfocitos humanos in vitro (51,52), en donde se observaron metafases con cromosomas descondensados, debido a la acción alquilante del insecticida, el cual bloquea los radicales OH pertenecientes a la serina ( $CH_2OHCHNH_2COOH$ ) y de la treonina ( $CH_3CHOHCH-$

$\text{NH}_2\text{COOH}$ ), aminoácidos presentes en la histona  $\text{H}_1$ , la cual es necesaria para la condensación de las moléculas de ADN.

Este mismo efecto inhibitorio puede ser provocado por el insecticida en las células osteoblasticas y osteoclasticas, dando por consecuencia, la falta de enzima: fosfatasa alcalina, ocasionando una falta en la dotación de los iones fosfato en cantidad suficiente en la sangre y tejido tisular, para formar los cristales de apatita, que son necesarios para saturar la matriz orgánica del hueso (51,52).

Algunos estudios también han demostrado que el diazinón reduce los niveles de otros aminoácidos como: el triptofano, y la histidina al bloquear su síntesis (78).

De acuerdo a los estudios realizados para establecer los caminos metabólicos del diazinón en la rata, se ha podido establecer, que el diazinón sufre una hidrólisis en las uniones de los grupos alquilfosfato, además de las uniones pirimidil fosfato (medida ésta última por la enzima glutatona), originandose dietilfosfatos y pirimidel glutatones, provocandose durante éste proceso una desulfuración oxidativa producida por la oxidasa  $\text{NADPH}_2/\text{O}_2$  al oxidar los enlaces  $\text{P=S}$  a  $\text{P=O}$ . (85), (fig.5).

El metabolismo del diazinón dentro de algunos mamíferos, demuestra que se producen tres metabolitos, los cuales contienen la misma molécula heterocíclica (fig. 6) variando únicamente el sustituyente R. Ensayos realizados con éstos tres compuestos muestran que tienen poca actividad de inhibición de la acetilcolinesterasa (17, 32, 60).

El proceso de liberación de las moléculas de azufre y fósforo, puede ser una de las causas principales del efecto mostrado por el diazinón en los fetos de rata tratada, ya que el azufre puede unirse a los proteoglicanos sulfatados, los cuales, en ésta condición son capaces de inhibir el proceso de mineralización y deposición de los cristales de apatita, originando la falta de desarrollo normal del hueso (68).

Por su lado al oxidarse el diazinón a diazoxon y liberarse las moléculas de fósforo, éstas pudieran ser capaces de unirse al oxígeno y originar un exceso de pirofosfatos, los cuales pueden actuar como inhibidores fisiológicos en los procesos de mineralización, así como en la formación y crecimiento de los cristales de apatita (4,33).

Aunque en ambos experimentos realizados ( 5 y 10 día, y 9 y 11 día de gestación), difieren en la fecha de sacrificio, en los dos casos los fetos de los grupos tratados con el insecticida, muestran una proporción similar en la osificación incompleta con respecto a los testigos.

Los resultados nos demuestran que solamente se requiere una sola dosis para poder provocar alteraciones en este proceso, ya que se sabe que la osificación en la rata comienza a partir del día 8-9 aproximadamente de gestación (88), ( anexo I), en donde con la dosis del día 10 de aplicación en la rata (experimento I) fue suficiente para alterar el proceso normal de osificación.

Sin embargo aunque solamente se encontró que el diazinón es capaz de inhibir el proceso de calcificación en los fetos de las ratas tratadas, este es un criterio suficiente para poderlo considerar como teratógeno.

Aunque es imposible afirmarlo, podemos inferir que esta alteración provocada en el feto, es capaz de alterar su desarrollo postnatal, por lo cual se ve necesario el realizar estudios correspondientes posteriores en donde se deje nacer a los organismos de las ratas que han sido tratadas con diazinón, y realizar una evaluación de



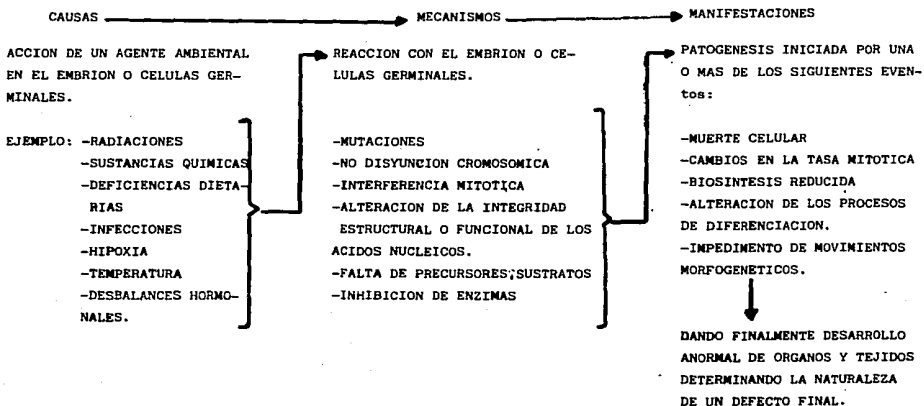
su desarrollo y comportamiento, para poder determinar si la alteración provocada por el diazinon en la osificación es un retraso o una inhibición permanente.

La problemática de los pesticidas y su repercusión sobre la salud humana marca la imperiosa necesidad de realizar un mayor número de estudios de éste tipo, así como plantear algunas recomendaciones acerca del uso de éstos agentes:

- 1) Es importante contar con normas más estrictas para el uso de éstos agentes en el control de plagas.
  
- 2) Realizar estudios para evaluar el daño potencial de los insecticidas en el ambiente.
  
- 3) Limitar la producción y uso de este tipo de productos químicos, proponiendo el uso de otras alternativas (como el control biológico).
  
- 4) Ampliar los estudios de efectos a largo plazo de los insecticidas sobre los ecosistemas y el hombre.
  
- 5) Implementar una serie de pruebas toxicológicas comple-

tas para autorizar la elaboración y venta de algunos compuestos, en especial los plaguicidas.

TABLA I. POSIBLES CAUSAS Y MECANISMOS DE TERATOGENESIS.



(Tomado de Fishbein, 1976).

**TABLA II. PERIODOS SENSITIVOS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO HUMANO DE DIFERENTES ORGANOS Y SISTEMAS Y SUS ALTERACIONES.**  
 (tomado de: Guzman-toledano, 1986).

**SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.**

<b>ALTERACION</b>	<b>DIA</b>
-ANENCEFALIA (falla del cierre del tubo neural)	28
-CATARATA LENTICULAR	120
-LENENCEFALIA (falla en el cierre del tubo neural anterior)	34
-ALTERACIONES DEL HOLOPROENCEFALO (ciclopia, agnesia; ralla en la notocorda y en la placa oral)	26
-MICROFTALMIA	150-180
-MENINGOCELE (falla en el cierre del tubo neural posterior)	26

**APARATO DIGESTIVO**

-AGNATIA (falla en el desarrollo del maxilar inferior)	180
-MICROGNATIA (poco desarrollo en el maxilar inferior)	120
-LABIO HENDIDO Y/O PALADAR HENDIDO (falla en la fusion de los procesos nasal y labial).	57
-ATRESIA DE ESOFAGO (tabicacion lateral de la parte cefalica primitiva del tubo).	30

-ATRESIA DE RECTO CON FISTULAS (tabicacion lateral de la cloaca dentro del recto y seno urogeni- tal).	45
--ATRESIA DEL DUODENO (re canaliza- cion del duodeno)	51-60
-MAL ROTACION DEL INTESTINO torsion de las asas intestinales, falta de movimientos moriogeneticos)	74

---



---

#### APARATO RESPIRATORIO

---

-HERNIA DIAFRAGMATICA	45
-----------------------	----

---



---

#### SISTEMA UROGENITAL

---

-UTERO BICORNIO (fusi3n de la parte baja de los ductos de Muller)	74
-HIPOSPADIAS (fusi3n de los labios de la urtra).	88
—CRIPTORQUIDEA(falta de deseenso de los testiculos)	51-64

---

---

**APARATO CARDIOVASCULAR**

---

-TRANSPOSICION DE LOS GRANDES VASOS	34
-ECTOPIA CORDIS (extrofia del cora- zon)	21
-COMUNICACION ENTRAVENTRICULAR	38
-PERSISTENCIA DE CONDUCTOS ARTERIOSOS (cierre del ducto arterioso)	al nacimiento 210
-ESTENOSIS DE LA VENA PULMONAR	

TABLA III. TOXICIDAD ORAL AGUDA DE LAS FORMAS "OXO" Y "TIONO" EXPRESADA EN LD<sub>50</sub> (dosis letal media), DE DIVERSOS INSECTICIDAS FOSFORICOS.

INSECTICIDAS	LD <sub>50</sub> ORAL AGUDA (mg/Kg)	
	FORMA "OXO"	FORMA "TIONO"
PARAOXON = PARATION	3.5	5.0
PIRAZOXON = PIRAZOTION	4.0	36.0
CLORFENINFOS = AKTON	10.39	146.0
SUMIOXON = FENITROTION	120.0	1250.0
PROPOXON = PROTION	435.0	2600.0

(la forma "oxo" es la presencia del enlace P=O, mientras que la forma "tiono" corresponde al enlace P=S). (tomado de Barberá, 1976).

**TABLA IV EMBRIOTOXICIDAD DEL DIAZINON EN RATAS TRATADAS POR VIA INTRAPERITONEAL LOS DIAS 5 y 10 DE GESTACION Y SACRIFICADAS EL DIA 20.**

	TESTIGO	TESTIGO (agua destilada)	DIAZINON (57.5mg/Kg)
PRENADAS	7	8	10
# DE REABSORCIONES/ # DE IMPLANTACIONES	0.00	5.12(b)	3.30(b)
Y PESO FETAL (gr.)	2.25	2.33	2.01
Y DEL NUMERO DE FETOS/ MADRE	10.71	9.25	11.5

**a**  $P < 0.05$

**TABLA V PORCENTAJE DE ALTERACIONES MACROSCOPICAS PRODUCIDAS POR EL DIAZINON EN FETOS DE 20 DIAS DE RATAS TRATADAS LOS DIAS 5 y 10 DE GESTACION.**

	TESTIGO	TESTIGO (agua destilada)	DIAZINON (57.5mg/Kg)
HEMATOMAS	0.00	0.00	2.66(b)
FALTA DE ALGUNA EXTREMIDAD	0.00	0.00	1.33

**b**  $P < 0.05$



TABLA VI EFECTO DEL DIAZINON SOBRE LA APARICION DE CENTROS DE OSIFICACION EN FETOS DE 20 DIAS DE RATAS TRATADAS LOS DIAS 5 y 10 DE GESTACION ( $\bar{X} \pm E.R.$ ).

	TESTIGO	TESTIGO (agua destilada)	DIAZINON (57.5mg/Kg)
No. De FETOS OBSERVADOS	20	48	22
MS	5.60 $\pm$ 0.183	5.48 $\pm$ 0.093	0.00(a)
MI	7.60 $\pm$ 0.183	6.70 $\pm$ 0.138	0.00(a)
ES	3.75 $\pm$ 0.427	3.27 $\pm$ 0.141	0.00(b)
CA	3.83 $\pm$ 0.107	3.75 $\pm$ 0.112	0.15 $\pm$ 0.119b

MS= miembros superiores

MI= miembros inferiores

ES=esternon

CA=cadera

a= P < 0.001

b= P < 0.05

TABLA VII EFECTOS DEL DIAZINON SOBRE EL PROCESO DE OSIFICACION EN FETOS DE RATAS TRATADAS LOS DIAS 5 y 10 DE GESTACION Y SACRIFICADAS EL DIA 20.

% DE LA PALTA DE OSIFICACION EN:	TESTIGO	TESTIGO (agua destilada)	DIAZINON (57.5mg/Kg)
COLUMNA VERTEBRAL	0.00	2.08	100.00 (a)
ARCOS CERVICALES	1.50	2.08	100.00 (a)
REGION OCCIPITAL	5.00	8.33	100.00 (a)
MANDIBULA	0.00	0.00	100.00 (a)

a= P < 0.001

TABLA VIII EMBRIOTOXICIDAD DEL DIAZINON EN RATAS TRATADAS POR VIA INTRAPERITONEAL LOS DIAS 9 y 11 SACRIFICADAS EL DIA 19.

	TESTIGO (agua destilada)	DIAZINON (25mg/Kg)	DIAZINON (50mg/Kg)
PREÑADAS	9	10	10
% DE REABSORCIONES/ IMPLANTACIONES	7.60	13.20(b)	8.00
$\bar{X}$ DEL PESO FETAL	1.76	1.45	1.48
$\bar{X}$ DE NUMERO DE FETOS/MADRE	9.44	8.00	10.30

b= P < 0.05

TABLA IX PORCENTAJE DE ALTERACIONES MACROSCOPICAS PRODUCIDAS POR EL DIAZINON EN FETOS DE 19 DIAS DE RATAS TRATADAS LOS DIAS 9 y 11 DE GESTACION.

	TESTIGO (agua destilada)	DIAZINON (25mg/Kg)	DIAZINON (50mg/Kg)
ACORTAMIENTO DE MIEMBROS.	0.00	1.23	0.00
HERNIA UMBILICAL	0.00	4.93(b)	1.78
AUCENCIA DE DEDOS	0.84	0.00	0.89
HEMATOMAS	2.10	2.46	10.71(a)
PALADAR HENDIDO	0.00	0.00	0.89

a= P < 0.001

b= P < 0.05

**TABLA X EFECTO DEL DIAZINON SOBRE LA APARICION DE CENTROS DE OSIFICACION EN FETOS DE 19 DIAS DE RATAS TRATADAS LOS DIAS 9 y 11 DE GESTACION ( $\bar{X} \pm E.E.$ ).**

	TESTIGO (agua destilada)	DIAZINON (25mg/Kg)	DIAZINON (50mg/Kg)
<b>No. DE FETOS OBSERVADOS</b>			
MS	2.48 <sup>±</sup> 0.301	0.00(a)	0.41 <sup>±</sup> 0.156a
MI	2.51 <sup>±</sup> 0.422	0.00(a)	0.00(a)
ES	0.82 <sup>±</sup> 0.202	0.00(b)	0.00(b)
CA	0.93 <sup>±</sup> 0.185	0.052 <sup>±</sup> 0.051(b)	0.048 <sup>±</sup> 0.049b

MS=miembros superiores

MI=miembros inferiores

ES= esternón

Ca= cadera

a=  $P < 0.001$

b=  $P < 0.05$

**TABLA XI EFECTOS DEL DIAZINON SOBRE EL PROCESO DE OSIFICACION EN FETOS DE RATAS TRATADAS LOS DIAS 9 y 11 DE GESTACION Y SACRIFICADAS EL DIA 19.**

¿ DE LA FALTA DE OSIFICACION EN:	TESTIGO (agua destilada)	DIAZINON (25mg/Kg)	DIAZINON (50mg/Kg)
COLUMNA VERTEBRAL	73.43	100.00(b)	100.00(b)
ARCOS CERVICALES	21.87	94.73(a)	100.00(a)
REGION OCCIPITAL	39.06	100.00(a)	97.56(a)
MANDIBIBULA	7.81	100.00(a)	90.24(a)

a=  $P < 0.001$

b=  $P < 0.05$

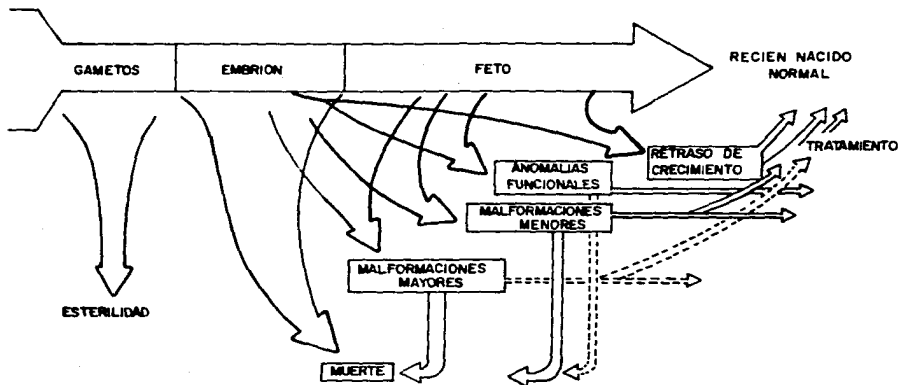
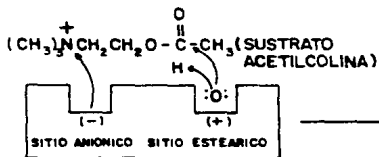
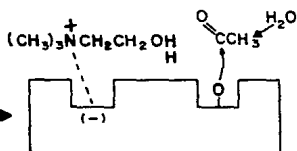


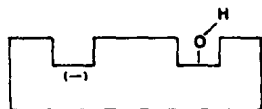
FIG. 1 REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA ACCION PRODUCIDA DE FACTORES EXTERNOS EN FUNCION DEL ESTADO DE DESARROLLO PRENATAL (DUPLESSIS, T. H. 1974)



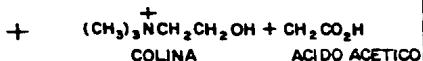
3A.1 ACETILCOLINESTERASA ( $\text{ECH}_2\text{OH}$ )



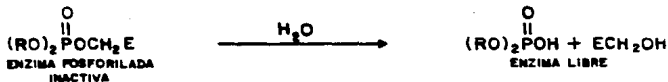
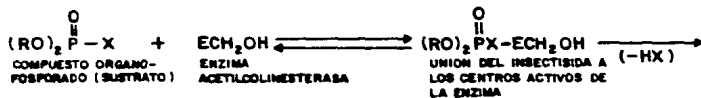
3A.2 EMZIMA ACETILADA



ACETILCOLINESTERASA



3A MECANISMO DE ACCION DE LA ACETILCOLINESTERASA



3B MECANISMO DE ACCION DE LOS ORGANOFOSFORADOS

(TOMADO DE CREMLYN, 1982)

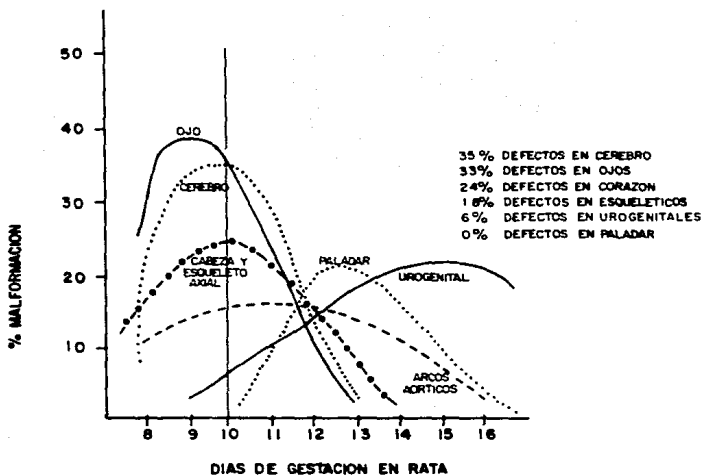


FIG. 4 REPRESENTACION HIPOTETICA DEL SINDROME DE MALFORMACIONES CON TRATAMIENTO EN DIFERENTES TIEMPOS (BEAUDOIN, A.R. 1980)

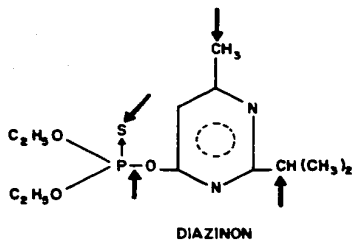
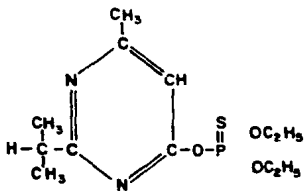
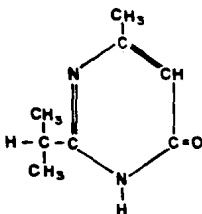


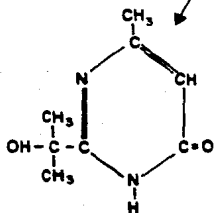
FIG. 5 SITIOS DE OXIDACION MICROSOMAL DEL DIAZINON (TOMADA DE WILKINSON, 1976)



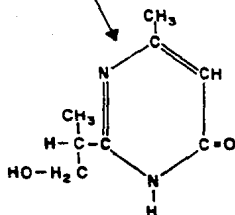
**DIAZINON**



**METABOLITO 1**



**METABOLITO 2**



**METABOLITO 3**

**FIG. 6 RUTA METABOLICA DEL DIAZINON EN LA RATA (MÜCKE ETAL, 1970)**





**FOTO 1. Peto de rata testigo:**

**a) Centros de osificación en los miembros superiores.**

**b) Osificación completa de la mandíbula.**



**FOTO 2. Feto de rata testigo**  
**Centros de osificación en miembros inferiores**



**FOTO 3. Feto de rata testigo:  
Proceso normal de osificación en columna vertebral.**



**FOTO 4. Feto de rata tratada con diasinón:  
falta de osificación en la columna vertebral.**



**FOTO 5. Peto de rata tratada con diazinón:  
Falta de osificación en arcos cervicales.**



**FOTO 6. Feto de rata testigo:**  
a) Osificación normal de la región occipital  
del cráneo  
b) Osificación normal de mandíbula.



**FOTO 7. Feto de rata tratada con diazinón:**  
a) Osificación incompleta de la región occipital del cráneo.  
b) Falta de osificación en la mandíbula.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Abou-Donia, M.B. Lapadula, D.M., Campbell, G. y Abdo, K. M. (1985). The joint neurotoxic action of inhaled methyl butyl ketone-vapor and dermally applied O-ethyl-O-4-nitrophenyl phenylphosphonothioate in hens: potentiating effect. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 79: 69-82.
- 2.- Abou-Donia, M.B. (1981). Organophosphorus ester-induced delayed neurotoxicity. *Enr Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 21: 511-548.
- 3.- Ali, F.A. y Fukuto, T.R. (1983). Toxicological properties of O,O,S-trialkyl phosphorothioates. *J. Toxicol. Environ. Health.* 12: 591-598.
- 4.- Ali, S.Y. (1983). Calcification of cartilage structure function and biochemistry. Ed: Academic. Press. N.Y.
- 5.- Allan, D. (1973). Lo esencial de la embriología humana. Ed. Manual Moderno. S.A. México.
- 6.- Amer, S.M. y Fahmy, M.A. (1982). Cytogenetic effect of pesticides. I. Induction of micronuclei in mouse bone marrow by the insecticide dursban. *Mutat. Res.* 101: 247-255.
- 7.- Baker, L., Egler, J.M., Klein, S.H. y Goldman, A.S. (1981). Meticulous control of diabetes during organogenesis prevents congenital lumbosacral defects in rats. *Diabetes* 30: 955-959.

- 8.- Balinsky, W. (1971). Embriología. Ed. Omega. España.
- 9.- Barberá, C. (1976). Pesticidas agrícolas. Ed. Omega. España.
- 10.- Beaudoin, A.R. (1980). Embryology and teratology. The laboratory rat. Vol. II. cap. 4. pp: 75-101. Academic. Press.
- 11.- Bondani, A., Córdoba, F. y Fiesco, L. (1976). Teratogenicidad. Revista de la facultad de medicina. XIX. No.8:11-20.
- 12.- Bonnefus, E. (1973). El hombre y la naturaleza. Fondo de Cultura Económica. México.
- 13.- Braham, B.E. y Wehnert, D.J. (1985). The fate of diazepam applied to thatched turf. Agron. J. 77: 101-104.
- 14.- Buttar, H.S. (1980). Effects of chlordiazepoxide on the pre- and postnatal development of rats. Toxicology. 17:311-321
- 15.- Buttar, H.S. y Moffatt, C. (1983). Pre- and postnatal development of rats following concomitant intrauterine exposure to propoxyphene and chlordiazepoxide. Neurobehav. Toxicol. Teratol. 5: 549-556.
- 16.- Colinvaux, A. (1973). Introducción a la ecología. Ed. Limusa. México.



- 17.- Cremlyn, R. (1982). Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Ed. Limusa. México.
- 18.- Dhari, K. (1983). Use of pesticides and ecological balance. *In*: Indian. J. Environmental. Protection. 3: 130-136.
- 19.- Dufrius, J. (1983). Toxicología ambiental. Ed. Omega. España.
- 20.- Duplessis, T.H. (1974). Embriopatías. En: Genética, enfermedades hereditarias del metabolismo. Ed. Espax.
- 21.- ECETOC (1983). Identification and assesment of the effects of chemicals on production and development reproductive toxicology. Monograph. No. 5.
- 22.- Erikson, U.J. (1984). Congenital malformations in diabetic animal models-review. *Diab. Res.* 1: 57-66.
- 23.- Erikson, U.J. y Jansson, L. (1984). Diabetes in pregnancy: decreased placental blood flow and disturbed fetal development in the rat. *Pediatric. Research.* 18: 135-138.
- 24.- Erikson, U.J. Dahlstrom, E., Larsson, K.S. y Hellerstrom C. (1982). Increased incidence of congenital malformation in the offspring of diabetic rats and their prevention by maternal insulin therapy. *Diabetes.* 31: 1-6.

25.- Eriksen,U.J. Dahlstrom,E. y Hellestrom,C. (1983). Skeletal malformations in the offspring of diabetic rats after intermittent withdrawal of insulin in early gestation. Diabetes. 32: 1141-1147.

26.- Fanghanell,J. y Schumacher,G.C. (1979). Environmental effects on normogenesis and teratogenesis with special regard to noise vibrations. En: Advances in the study of birth defects. Ed. University Park Press. USA.

27.- Fishbein,L. (1976). Teratogenic, mutagenic, and teratogenic effects of insecticides. En: Insecticide Biochemistry and Physiology. Ed. Wilkinson,C.P. Plenum. Press. N.Y. PP: 577-603.

28.- Gal, P. y Sharpless,M.K. (1974). Fetal drug exposure-behavioral teratogenesis. Drug. Intell. Clin. Pharm. 18:186-201.

29.- Gaukden,M.E. (1982). Chromosome aberration as cause subtle teratogenesis and use of the grasshopper neuroblast to test potential mutagen and teratogen. Cytogenet. Cell. Genet. 33: 114-118.

30.- Graedel,T.E., Hawkins,D.T. y Caxton, L.D. (1986). Atmospheric chemical compounds. Academic. Press. N.Y.

31.- Guther,F. (1973). Residue Reviews. Spring Velary. 46: 107-110.

- 32.- Guzmán-Toledano, R. (1986). Defectos congénitos en el recién nacido. Ed. Trillas. México.
- 33.- Ham, N.A. (1975). Tratado de histología. Ed. Interamericana. México.
- 34.- Hill, I. y Wright, S. (1978). Pesticide microbiology. Ed. Academic Press. Gran Bretaña.
- 35.- Hodgson, E. y Guthiere, F.E. (1978). Introduction to biochemical toxicology. Ed. Elsevier Press. N. Y.
- 36.- Hoffman, D.J. y Sileo, L. (1984). Neurotoxic and teratogenic effects of an organophosphorus insecticide (phenyl phosphonothioic acid O-ethyl-O-(4-nitrophenyl) ester) on mallard development. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 73: 235-238.
- 37.- Hubert, M. y Worthing, G. (1977). Pesticide Manual. Ed. British Crop. Protection. Council. Inglaterra.
- 38.- Jelinek, R. y Rychter, J. (1976). Morphogenetic system and the central phenomena of teratology. En: *Advances in the study of birth defects*. Ed. University Park Press. USA.
- 39.- Johnson, E.M. (1981). Screening for teratogeny hazards nature of problems. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 21: 417-419.
- 40.- Keeler, R.P. y Crowe, M.W. (1984). Teratogenicity and toxicity of wild tree tobacco *nicotiana glauca* in sheep. *Correll. Vet.* 74: 50-59.

41.- Kementh, E. (1972). The biology of pollution. Publ. Edward Harneld. Gran Bretaña.

42.- Khara, K.S., Whalen, C. y Anger, G. (1982). Teratogenicity study pyrethrum and rotenone (natural origen) and ronnel in pregnant rats. J. Toxicol. Environ. Health. 10: 110-119.

43.- Khara, K.S. (1984). Maternal toxicity- a possible factor in fetal malformations in mice. Teratology. 29: 411-416

44.- Kitchin, K.T. y Ebron, M.T. (1983). Maternal hepatic and embryonic effects of 1,2,3,4-tetrachlorobenzene in the rat. Toxicology. 26: 243-256.

45.- Kitchin, K.T., Ebron, M.T. y Svendsgard, D. (1984). In vitro study of embryotoxic and dysmorphogenic effects of mercuric chloride and methylmercury chloride in the rat. Fd. Chem. Toxic. 22: 31-37.

46.- Kobayaski, H., Yuyama, A., Kudo, M. y Matsuskara, N. (1983). Effects of organophosphorus compounds O,O-dimethyl-O-(2,2-dichlorovinyl)phosphorothioate (fenitrotion) on brain acetylcholine content and acetylcholinesterase activity in Japanese quail. Toxicol. 28: 219-227.

47.- Lang, R. (1984). The mammalian spot test and its use for testing of mutagenic and carcinogenic potential: experience with the pesticide chlordimeform its principal metabolites and the drug lisuride hydrogen maleate. Mutation. Research. 13: 219-224.

48.- Langhman, J. (1976). Embriología médica. Ed. Interamericana. México.

49.- Leidy, R.B. y Wright, C.G. (1982). Concentration and movement of diazinon in air. J. Environ. Sci. Health. 17: 311-319.

50.- Leidy, R.B., Wright, C.G. y Dupree, H.E. (1984). Concentration and movement of diazinón in air. II. vertical distribución in rooms. J. Environ. Sci. Health. 19: 747-757.

51.- Lopez, D.E. y Carrscol, E. (1987). sensitivity of human lymphocyte chromosome to diazión at different times during cell culture. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 3: 217-226.

52.- Lopez, D., Alexandre, C., Merchan, M. y Carrascal, E. (1986). In vitro induction of alteration in peripheral blood lymphocytes by different doses of diazinon. Bull. Environ. Toxicol. 37: 517-522.

53.- Marc.S.P. (1973). Contaminación. Ed. Salvat. México.

- 54.- Mahr, U. y Miltewburger, G.H. (1976). The effect of insecticide on chinese hamster cell culture. *Mutat. Res.* 40: 107-118.
- 55.- Mallipudi, N.M., Umetsu, N., Toia, R.F., Talcott, R.E. y Fukuto, T.R. (1979). Toxicity of O,O,S-trimethyl and triethyl phosphorotioate to the rat. *J. Agric. Food. Chem.* 27: 243-266.
- 56.- Mitzuka, M.B., Rawnsley, A.W. y Vadehra, A.V. (1976). Animal model in teratology. En: *Animals for medical research models for the study of human disease.*
- 57.- Montgomery, R.R. y Reinhardt, C.F. (1980). Industrial toxicology. En: *Survey of contemporary toxicology. Vol. 1* Ed. J. Wiley & Sons. N.Y.
- 58.- Montz, W. y Kirkpatrick, R.L. (1985). Temporal patterns of brain cholinesterase activities of white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) following dosing with diazinon with parathion. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 14: 19-24.
- 59.- Moreland, D.E. y Novitzky, W.P. (1984). Interference by DDT and cyclodiene types of insecticides with chloroplast associated reactions. *Chem. Biol. Interactions.* 18:208-212
- 60.- Mucke, W., Alt, K.O. y Esser, H.O. (1970). Degradations of C14- labeled diazinon in the rat. *J. Agr. Food. Chem.* 18: 208-212.

61.- Murphy, S.D. (1980). Assessment of the potential for toxic interaction among environmental pollutants. En: The principles and methods in modern toxicology. Ed. Elsevier North Holland Biomedical. Press. Amsterdam. N.Y.

62.- Muscarella, D.E., Keonwn, J.F. y Bloom, S.E. (1984). Evaluation of the genotoxic and embryotoxic potential of chlorpyrifos and its metabolites in vivo and in vitro. *Mutat.* 6: 13-23.

63.- Matoff, I.L. y Reiff, B. (1970). Quantitative studies of the effect of antagonists on the acute toxicity of organophosphates in rats. *Br. J. Pharmac.* 40: 124-134.

64.- Navarrete, J.I. (1981). Factores que predisponen a las malformaciones congénitas. Gen. Ed. Cetes. UNAM.

65.- Nishio, A. y Uyeki, E.M. (1981). Induction of sister chromatid exchanges in chinese hamster ovary cell by organophosphate insecticides and their oxygen analogs. *J. Toxicol. Environ. Health.* 8: 939-946.

66.- Njagi, G.E. y Gopalan, H.N. (1981). Mutagenicity testing of herbicides, fungicides, and insecticides. I. chromosome aberrations in Vicia faba. *Cytologia.* 46: 169-172.

67.- Norton, S. y Sheets, L. (1983). Neuropathy in the chick from embryonic treatment with organophosphorus compounds in ovo. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 78: 412-420.

- 68.- Nulend-Klein, J., Veldhuijzen, J.P., Van de Stadt, R., Van Kampen, G.P., Kuijter, R. y Burger, E.H. (1987). Influence of intermittent compressive force on proteoglycan content in calcifying growth plate cartilage in vitro. The Journal of Biological Chemistry. 262: 15490- 15495.
- 69.- Palmer, A.K. (1980). Teratology and safety evaluation. En: The principles and methods in modern toxicology. Ed. Elsevier/ North Holland Biomedical Press. Amsterdam. N.Y.
- 70.- Pfeiffer, C.J., Nagai, T., Fujimura, M. y Tobe, T. (1985). Teratogenic effects of carcinogenic agents on limb regeneration in the Japanese newt *Cynops pyrogaster*. Teratog. Carcinog. Mutag. 5: 137-147.
- 71.- Picciano, J.C., Morris, W.E., Kwan, S. y Wolf, B.A. (1983). Evaluation of teratogenic and mutagenic potential of the oxidative dyes: 4-chlororesorsinol, 4-phenylethylenediamine and pyrogallol. J. Amer. Coll. Toxicol. 2: 325-333.
- 72.- Picciano, J.C., Di Nardo, J.C., Schnetzingtr, R.W., Morris, W.E. y Wolf, B.A. (1984). Teratological assessment of the oxidative dye: 4-methyl-N-ethylamine phenol sulphate. Drug. Chem. Toxicol. 7: 397-405.
- 73.- Picciano, J.C., Morris, W.E. y Wolf, B.A. (1984). Evaluation of the teratogenic potential of the oxidative dyes: 6-chloro-4-nitro-2-aminophenol and 0-chloro-P-phenylethylenediamine. Pd. Chem. Tox. 22: 147-149.



- 74.- Reddy, S.P., Bhagyalaskshmi, A. y Ramamuthi, R. (1986). Changes in acid phosphate activity in tissues of crab *Ozrotelphuza senex senex*, following exposure to methylparathion. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 37: 106-112.
- 75.- Reynaga, G.J. (1987). Efecto del medio ambiental sobre la salud. *Enfermera al día.* 12: 24-27.
- 76.- Ritter, E.J., Scott, W.J., Randall, J.L. y Ritter, J.M. (1985). Teratogenicity of dimethoxyethyl phthalate and its metabolite methoxyethanol and methoxyacetic in the rat. *Teratology.* 32: 27-31.
- 77.- Rosas, I., Baez, A., Belmont, R. y Gómez, E. (1980). *Eichhornia crasipes* como un indicador de la presencia de cadmio. *Revista geofisica.* 12: 43-54.
- 78.- Ruggaju, S.K. y Kites, P.A. (1985). Effects of diazinón on nucleotide and amino acid content of chick embryos. *Teratogenic Considerations. Biochemical Pharmacology.* 34: 1937-1943.
- 79.- Sandor, S. y Checiu, M. (1979). Some problems of chemical teratogenesis. En: *Advances in the study of birth defects.* Ed. University Park Press. USA.
- 80.- Sheets, L y Norton, S. (1985). Peripheral nerve damage in chicks following treatment with organophosphorus compound in ovo. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 78: 412-420.

- 81.- Snell, S.R. (1976). Embriologia médica. Ed. Interamericana. México.
- 82.- Sperber, G.H. (1973). Craniofacial embryology. Ed. John Wright & Sons. Gran Bretaña.
- 83.- Turk, W. (1984). Tratado de Ecología. Ed. Interamericana. México.
- 84.- Umetsu, N., Mallipudi, N.M., Toia, R.F., March, R.B. y Fukuto, T. R. (1981). Toxicological properties of phosphorothioate and related esters present as impurities in technical organophosphorus insecticides. *J. Toxicol. Environ. Health.* 7: 481-497.
- 85.- Wilkinson, F.C. (1976). Insecticide biochemistry and physiology. Ed. Plenum. N.Y.
- 86.- Wilson, B.W., Ishikawa, J., Chow, E. y Cisson, C. (1983). Multilevel studies of organophosphate toxicity. *Neurotoxicology.* 4: 143-156.
- 87.- Worthing, C.R. y Hubert, M. (1977). Pesticide Manual. Ed. British Crop Protection Council. Gran Bretaña.
- 88.- Wright, H.V., Asling, C.W., Doherty, H.L., Nelson, W. M. y Evans, H.M. (1958). Prenatal development of skeleton in long-evans rats. *Anat. Rec.* 130:659-677.

89.- Yamamoto,T., Egashira,T., Yoshida,T. y Kuroiwa,Y.  
(1983). Comparative metabolism of fenitrothion and methyl  
parathion in male rats. Acta Pharmacol. et. Toxicol. 53:  
96-102.

**ANEXO I  
HUESO**

**EDAD FETAL EN DIAS**

15 15½ 16 16½ 17 17½ 18 18½ 19 19½ 20 21

OCIPITAL

BASEOCCIPITAL

EXOCCIPITAL

SUPRACOCCIPITAL

PARIETAL

FRONTAL

PHESPHENOIDE

BASETENORDE

CUERPO

PROCESO LAT.

ESQUAMOSAL

BULLA TIMPANICA

ETMOIDE



CARTILAGO



CENTROS DE OSIFICACION



EXPANSION HUESO



HUESO DEFINITIVO

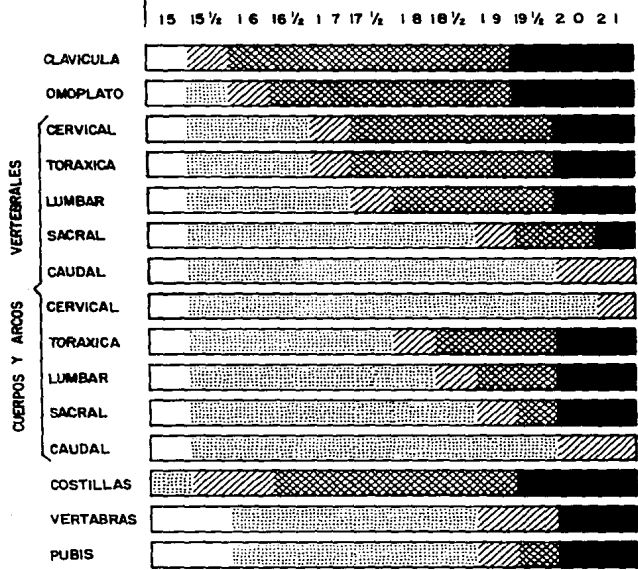


DESPUES DEL NACIMIENTO

**DEBARROLLO DE LOS HUESOS CRANEALES  
EN RATAS**

**ANEXO I  
HUESO**

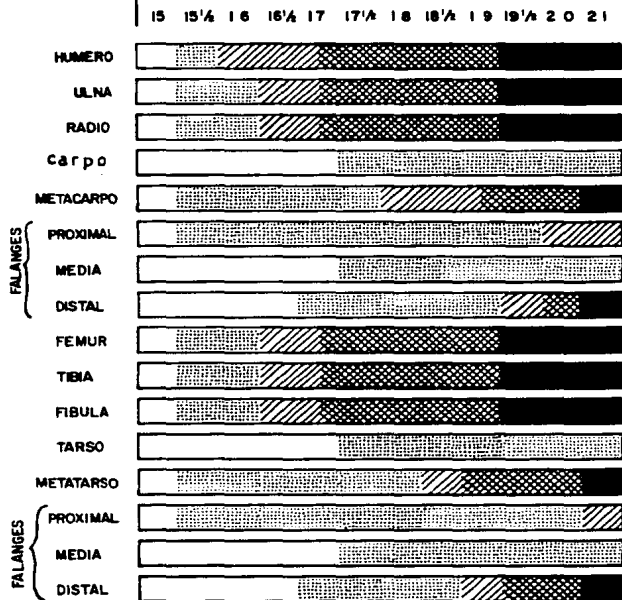
**EDAD FETAL EN DIAS**



**DESARROLLO DE LOS HUESOS DE TRONCO Y CINTURA  
EN RATAS**

**ANEXO I  
HUESO**

**EDAD FETAL EN DIAS**



**DESARROLLO DE LOS HUESOS DE LAS EXTREMIDADES  
( TOMADO DE WRIGHT, et al 1958 )**

**EN RATAS**