

*Universidad Nacional
Autónoma de México*

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**EFFECTOS TERATOGENICOS DE LOS
SOLVENTES ORGANICOS ETILÉN GLICOL Y
METIL CELOSOLVE EN LA ODONTOGÉNESIS
EMPLEANDO UN MODELO EXPERIMENTAL.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

C.D. ISRAEL MORALES SÁNCHEZ.

Tutora y Directora: Dra. Santa Ponce Bravo.

Asesores: Dr. Constantino Ledesma Montes.

Mtra. Arcelia Felicitas Meléndez Ocampo.

Ciudad Universitaria 2006.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE

	Página
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. MARCO TEÓRICO	7
A. MALFORMACIONES DE ORIGEN GENÉTICO	7
B. SÍNDROME DE SAAVEDRA O ETÉRES DEL GLICOL	9
C. ODONTOGÉNESIS	13
D. SOLVENTES ORGÁNICOS	20
1. ETILÉN GLICOL	20
2. METIL CELOSOLVE	28
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
V. JUSTIFICACIÓN	32
VI. HIPÓTESIS	33
VII. OBJETIVOS	34
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	35
A. METODOLOGÍA	35
B. MATERIAL	39
C. VARIABLES	40
IX. RESULTADOS	41
A. MACROSCÓPICOS	45
B. MICROSCÓPICOS	46
X. DISCUSIÓN	58
XI. CONCLUSIONES	62
XII. BIBLIOGRAFÍA	63

I.- RESUMEN.

El Síndrome de Éteres del Glicol o Síndrome de Saavedra, consiste en alteraciones faciales asociadas a la exposición prenatal de etilén glicol (EG) y metil celosolve (MC). Este trabajo experimental se realizó para entender las alteraciones del desarrollo y diferenciación durante la odontogénesis. Se emplearon 35 ratas jóvenes cepa Wistar, distribuidas en 7 grupos con 5 ratas cada uno (1 control y 6 experimentales), se les administró EG y MC en una relación de 1:1 en concentraciones de 5, 10, y 20% por vía oral [VO] e intraperitoneal [VIP], 0.5 mL diarios. Las ratas fueron apareadas, cuando se observó el tapón vaginal se administró el tratamiento durante 19 días. Al término se practicó cesárea y se obtuvieron 154 fetos vivos, 24 muertos y 99 reabsorciones. Se procesaron tres especímenes de cada camada para obtener cortes en parafina teñidos con Hematoxilina y Eosina y Tricrómica de Masson. Los hallazgos microscópicos revelaron ligero retraso en la formación dental en los grupos 5% VIP y 10% VO y más acentuada en el grupo de 20% VO. Se observó relación inversa en el porcentaje de fetos vivos con la concentración y vía de administración, sin formación de productos en el grupo 20% VIP.

Se concluye que las soluciones de EG y MC al 5% VO inhiben ligeramente la formación y desarrollo del germen dentario, no así las demás dosis, en donde se observó retraso muy marcado en el desarrollo y diferenciación del germen dental y falta de desarrollo de los productos.

ABSTRACT.

The Glycol Ethers Syndrome or Saavedra Syndrome consists in facial alterations associated to ethylene glycol (EG) and methyl cellosolve (MC) intrauterine exposure. This experimental work was aimed to understand the developmental and cellular differentiation alterations occurring during the odontogenesis in rats. 35 female young pregnant Wistar rats were used distributed in seven groups with five rats each (one control and six experimental groups). EG and MC was dispensed (1:1 in volume) at different concentrations (5%, 10%, and 20%) and 0.5 ml each solution was dispensed orally [O] and intraperitoneally [IP]. All rats were bred and day one was when the vaginal plug appeared. At day 19 post-treatment a caesarean was performed and a total of 154 alive, 24 dead fetuses and 99 reabsorptions were obtained. Three fetuses per litter were immersed in neutral buffered formalin and routinely processed to obtain 5 μ , paraffin embedded, H and E and Mason Trichromic stained slides. Microscopic findings demonstrated slight delay in dental development in the 5% O and 10% IP treated groups. And a more accentuated delay in the 20% O group. We found a reverse relation in the percentage of alive fetuses related with the administration route and concentration of the solutions. No fetuses were obtained in the 20% IP group.

The results of this study strongly suggest that 5% EG and MC O solutions slightly inhibit formation and development of the rat dental germs and that the other doses produce marked delay in dental development and cellular differentiation and that in 20% treated animals no products developed.

II.- INTRODUCCIÓN.

Hoy en día se conoce un grupo de enfermedades cuyo origen se atribuye a la contaminación ambiental, éstos y otros problemas de salud se encuentran dentro de las prioridades de la Secretaría de Salud, debido a que el nivel de afectación dentro de la población es tanto en adultos mayores como en infantes o en mujeres gestantes, pero existe un pequeño núcleo poblacional, el cual se encuentra más expuesto a numerosos agentes tóxicos de naturaleza diversa aún no identificados como tales; algunos de ellos son empleados en la industrial textil, de los cosméticos y pinturas automotrices entre otras y este núcleo poblacional lo conforman los productos de gestación. La exposición a estos factores y en especial a los solventes que se emplean para la elaboración de materia prima, producen durante toda la vida del individuo, desde la concepción hasta la muerte, cierto tipo de alteraciones que varían en su expresión, teniendo en algunos casos un efecto aditivo, siendo en el periodo laboral cuando se tiene una exposición mayor. Pese a la creciente preocupación sobre salud ambiental, casi nunca se considera al producto de la gestación como sujeto factible de ser contaminado o afectado. Ésto se debe básicamente a la poca cultura inculcada a trabajadores, obreros o simplemente a las personas que manejan diferentes materiales tóxicos, así como a la deficiente o nula información que las empresas productoras y maquiladoras proporcionan para el manejo de productos tóxicos.

El conocimiento del síndrome de éteres del glicol surge a partir del año 1990 cuando en el municipio de Matamoros, Tamaulipas, se detectaron 134 pacientes, los cuales manifestaron algunas malformaciones congénitas con o sin retraso mental, nacidos entre septiembre de 1971 y septiembre de 1977. De ellos, 44 poseían un patrón facial peculiar, presentando en algunos casos consanguinidad (hermanos), mostrando diferentes grados de retraso mental

proporcional a su posición por nacimiento en el núcleo familiar. Posterior al interrogatorio, se asoció la presencia de las alteraciones a la actividad laboral de las madres, las cuales trabajaban a partir del año 1970 en una compañía estadounidense encargada de la fabricación de capacitores para radio y televisión.^{1,2} La característica principal de la labor de las madres de los sujetos afectados era el contacto directo y constante con dos solventes orgánicos: Etilén Glicol (HO-CH₂-CH₂-OH) [EG] y Metil Celosolve (HO-CH₂-CH₂-O-CH₃); [MC] ¹⁻⁴

Las trabajadoras tenían contacto con el MC y el EG, por vías cutánea, oral y respiratoria, ello debido a que durante la totalidad de la jornada laboral, las mujeres ensamblaban los capacitores dentro de una solución de EG y MC, con sus manos y sin ningún tipo de protección como guantes o mascarillas.^{1,2} Por las características químicas de los solventes, éstos volatilizaban y eran inhalados por las obreras, debido a la falta de ventilación o extractores en la fábrica. Además de todo lo anterior, las trabajadoras pudieron ingerir los solventes mientras consumían sus alimentos sin haberse aseado las manos anticipadamente, todas estas circunstancias se presentaron sin modificación alguna aún cuando la trabajadora se encontraba en gestación. ^{1,2}

Los vapores orgánicos que inhala una mujer embarazada pueden alcanzar al feto.¹ Dichos solventes son capaces de atravesar la barrera placentaria y dañarlo. Asimismo, actúan como un factor de riesgo para la aparición de malformaciones o daño cerebral, también se producen exposiciones en el curso de la vida cotidiana, que pueden variar desde la inhalación de vapores, a la absorción de un solvente por cualquier vía. Los efectos de la exposición pueden variar desde un simple olor desagradable, hasta la muerte cuando la concentración es muy alta. ^{5,6}

La cito-toxicidad de los agentes químicos aún no es ampliamente conocida y varía dependiendo de la susceptibilidad individual, determinada por la edad, género, factores genéticos, temperatura corporal, estado nutricional, estados patológicos asociados, diferencias anatómicas en la permeabilidad de la piel y las membranas de los tractos respiratorio y digestivo. Siendo todos ellos factores individuales y específicos.

La Patología Ambiental incluye el estudio de los procesos asociados a cualquier factor desencadenante, que no sea de origen genético, entre los que se incluyen factores nutricionales, infecciosos, productos químicos y factores físicos.⁷ Estas alteraciones poseen su base a nivel molecular, con interacciones solvente-célula que dan como resultado el surgimiento de alteraciones tanto estructurales, como metabólicas, esto a nivel general en todos los linajes del organismo, los cuales, durante el desarrollo de los órganos dentarios dan por resultado alteraciones del desarrollo dental y clínicamente se manifiestan como anodoncia, hipodoncia, microdoncia y retraso en la erupción de los dientes.⁸

En relación con los órganos dentarios, no se tiene una descripción de los fenómenos ocurridos durante la odontogénesis y la presencia de EG y MC, con relación a los cambios en su histomorfología, grado de desarrollo y diferenciación y la interacción con los solventes EG y MC. Ambos solventes orgánicos se emplean de manera habitual en la elaboración de múltiples productos de uso cotidiano, así como materia prima para la maquila de componentes electrónicos.

Es por ello que en el presente trabajo se buscó establecer la asociación causa-efecto a diferentes dosis, concentraciones y vía de administración de una mezcla con los solventes antes citados, y la presencia de alteraciones

dentales macro y microscópicas durante el proceso de odontogénesis en un modelo de rata cepa Wistar.

De igual manera, es de primordial importancia tomar en cuenta estas alteraciones y poderlas vincular certeramente con su causa, trasladando los resultados a la población humana, la cuál fue la primera en presentar este problema de salud publica.^{1,2,7}

Dentro de estudios previos enfocados a la teratogénesis por EG y MC, la Dra. Dolores Saavedra fue la primera en exponer algunas de las características morfo-funcionales de pacientes con este tipo de alteración, sin profundizar en sus causas o alteraciones metabólicas, cabe destacar que ella es la primera persona que publicó y estudió las características peculiares del síndrome, por lo que se le denomina Síndrome de Éteres del Glicol o Síndrome de Saavedra.^{1,2,7}

III.- MARCO TEÓRICO.

A. MALFORMACIONES DE ORIGEN GENÉTICO.

El desarrollo de un individuo comienza con la fecundación, fenómeno por el cual el espermatozoide y el óvulo se unen para dar origen a un nuevo organismo, denominado cigoto.^{7,9}

Los efectos causados por numerosos compuestos químicos que acceden al organismo durante la vida fetal tardía o los primeros años de vida postnatal consisten en cambios en la diferenciación de algunos tipos celulares que se encuentran en períodos críticos de su desarrollo, éstos son irreversibles y pueden detectarse en períodos tardíos de la vida.¹⁰ Algunos agentes ambientales son capaces de cruzar la barrera placentaria e interrelacionar con los tejidos del embrión o feto en formación originando alteraciones estructurales, bioquímicas o funcionales que se traducen en malformaciones congénitas y/o retraso psicomotor. A estos agentes capaces de modificar el desarrollo intrauterino se les conoce como teratógenos.¹¹

Las malformaciones congénitas se pueden definir como defectos estructurales presentes al nacimiento, pero algunos, tal es el caso de los defectos cardiacos y las anomalías renales, pueden manifestarse años más tarde. Cabe destacar que el término congénito no implica ni excluye contundentemente una base genética, siendo indispensable definir algunos términos empleados para las malformaciones congénitas.⁹

Malformación: Representa una serie de errores primarios de la morfogénesis. Pueden adoptar varios patrones, algunos implican un solo sistema del cuerpo, en tanto que en otros casos pueden coexistir múltiples malformaciones que afectan diferentes órganos y tejidos.⁹

Deformación: En contraste con las malformaciones, éstas se originan en una etapa posterior de la vida fetal y representan alteraciones de forma o estructura como resultado de factores mecánicos.⁹

Síndrome de malformación: Se refiere a la presencia de varios defectos que no pueden explicarse con base en un solo error inicial localizado en la morfogénesis. Los síndromes están causados con mayor frecuencia por un solo factor (por ejemplo, infección viral o anomalía cromosómica específica) que afecta a varios tejidos al mismo tiempo.⁹

Teratología: (del griego *teratos*, monstruo) es el estudio de los defectos al nacimiento y sus causas, así como la investigación relacionada con anomalías estructurales y de la conducta. Así entonces, tenemos que los teratógenos son los factores que ocasionan estas anormalidades.^{7,9}

Algunos términos son muy característicos, por lo que se aplican comúnmente a malformaciones de órganos determinados, como el caso de:

Agenesia: Se refiere a la ausencia completa de un órgano o de su primordio.

Atresia: Es la falta de abertura, casi siempre de una víscera hueca o de un conducto como el intestino o los conductos biliares.

Aplasia e hipoplasia: Indican la ausencia de desarrollo o desarrollo incompleto de un órgano respectivamente. A diferencia de agenesia, el órgano está presente pero poco desarrollado.^{7,9}

Las causas más comunes de malformaciones humanas se pueden agrupar en dos categorías principales: genéticas y ambientales. Aunque aproximadamente la mitad de los casos no tienen causa conocida (idiopática).⁷

B. SÍNDROME DE SAAVEDRA O SÍNDROME DE ÉTERES DE GLICOL.

La exposición experimental al EG y MC en etapa prenatal, presenta un cuadro de alteraciones macroscópicas de magnitud variable, que van desde la disminución en el diámetro nasal y microcefalia hasta acránea.⁸ En los diferentes modelos animales en los que se reprodujo el síndrome, también se reportó retraso en el crecimiento, microcefalia y cardiopatías. En el sistema nervioso central (SNC) se observó atrofia del cerebelo e hipocampo, así como aplanamiento de las circunvoluciones, poca profundidad en las fisuras, retraso en la mielinización de los ganglios basales, desarrollo incompleto de la corteza, agenesia del cuerpo calloso, aberraciones en la migración neuronal y fusión de las circunvoluciones antero-posteriores (liscencefalia); así como ataxia, convulsiones y coma. En otros estudios^{8,12} además de las características ya mencionadas anteriormente, se observó macroglosia aparente y retrognacia mandibular, así como aumento en el ancho nasal que es una característica determinante y puede ser la clave para el diagnóstico diferencial con el síndrome del feto alcoholizado.¹³

El Síndrome de éteres de glicol, o Síndrome de Saavedra, se caracteriza por alteraciones cráneo-faciales, músculo- esqueléticas y retraso mental en grado variable. Los niños que nacen con este padecimiento manifiestan alteraciones del SNC como atrofia cortical, hidrocefalia, meningocele, agenesia del cuerpo calloso, alteraciones en las circunvoluciones, migración neuronal, correlacionadas funcionalmente con alteraciones eléctricas corticales y potenciales visuales, que sugieren disfunción del tallo cerebral, además de las alteraciones de la conducta, de lenguaje y retraso psicomotor.^{1,2,8,12}

Además de alteraciones cráneo-faciales¹³ existen alteraciones oculares, otorrinolaringológicas, atrofia del conducto auditivo externo que ocasiona

taponos de cerumen de difícil extracción, otitis media y ruptura de membrana timpánica, así como colesteatomas. Sin embargo, no hay evidencia de anomalías de los huesos del oído medio.¹ Las malformaciones músculo-esqueléticas en columna vertebral son: escoliosis, acortamiento de extremidades, con afectación de tejidos blandos, hiperlaxitud ligamentaria e hipertrofia del músculo esternocleidomastoideo. Además de la presencia de paladar fisurado, útero doble, polidactilia, hipoplasia pulmonar, defecto en el septum interventricular, malformación renal, hernia diafragmática y malformaciones vasculares.¹

Como se mencionó con anterioridad, el estudio a nivel odontogénico, solo se describió radiográficamente como presencia de anodoncia, taurodontismo y acortamiento o elongación radicular.¹

Según los datos reportados en el estudio clínico epidemiológico de Saavedra y Arteaga en 1997², realizado en pacientes de Matamoros, Tamaulipas, dichos compuestos orgánicos de uso industrial fueron capaces de afectar a un grupo de hijos de trabajadoras, siendo la causa tanto de efectos tóxicos transitorios, como de modificaciones permanentes en el desarrollo prenatal (alteraciones del desarrollo). Dando inicio al reconocimiento de la capacidad de ambos solventes para ser absorbidos vía cutánea, bucal o inhalados^{2,8,12}. Específicamente en esta localidad, un grupo de mujeres trabajadoras mexicanas, inhalaron de manera crónica el vapor de los solventes, asimismo, los absorbieron constantemente a través de la piel en pequeñas concentraciones. Los solventes también fueron ingeridos, debido a que alguna cantidad de los solventes permaneció en sus manos a la hora de comer por falta de una higiene adecuada.^{1,2,12} En esta localidad, en el transcurso de 20 años hubo casos de intoxicación que variaron de leves a severos, lo cual estaba causado por la susceptibilidad individual y el período de trabajo en el departamento de "ensamble-mojado".¹²

Se observó una relación dosis-efecto, donde la variabilidad fenotípica pudo relacionarse con la duración de la exposición (permanencia laboral) y el período de embarazo (primero, segundo o tercer trimestres); tal variación clínica pudo también explicarse por la susceptibilidad materna, la cual está relacionada con la capacidad de desintoxicación individual, si la madre tiene una "capacidad enzimática baja", el feto recibirá una alta cantidad de los solventes. La capacidad enzimática desintoxicante se sugirió al observar que, con un tiempo similar de exposición durante embarazos subsecuentes, los hijos manifestaron menor grado y número de malformaciones.¹² Si en algún momento de la gestación se tiene contacto directo con solventes orgánicos como MC y EG, dependiendo la susceptibilidad de la madre, dosis, y tiempo de exposición, estos compuestos pueden ocasionar alteraciones en los fetos.^{12,14}

Al momento de abrir los recipientes que contienen los solventes en estado puro, se despiden vapores que se inhalan. Si a ello se le suma la carencia de ventilación o extractores y protección como mascarar con filtros, las trabajadoras llegaban a presentar síntomas de intoxicación aguda, tales como, cefalea, náuseas, vómitos, mareos, somnolencia y en algunos casos, letargia.^{1,12} Otra vía de administración/intoxicación es la cutánea,¹⁵ utilizando la llamada solución de electrolitos compuesta por MC y EG a diluciones bajas, solas o combinadas con ácido bórico, fosfórico o benzoico, las mujeres mantuvieron las manos sumergidas en esta solución, sin guantes que evitaran el contacto de los líquidos con la piel, por lo que éstos pudieron absorberse en forma constante a través del epitelio. En relación con los hábitos higiénico-dietéticos de las mujeres, se conoció que éstos eran deficientes, debido a que ingerían sus alimentos (tortas, tacos, o alimentos elaborados por ellas), sin previo aseo de las manos, lo que abre la posibilidad de saber la importancia de la vía por ingesta crónica de pequeñas cantidades residuales de solución como factor causal de la enfermedad.^{1,2,8,12}

La toxicidad de ambas sustancias varía dependiendo de la susceptibilidad individual, la dosis y el tiempo de exposición al agente químico.^{1,2,8}

Ambos solventes se consideran como teratogénicos, debido a que:

✚ Alteran el desarrollo normal, produciendo un patrón histológico de anormalidades similares en todos los pacientes afectados por la exposición continua.^{1,2}

✚ Las madres más susceptibles tuvieron hijos con un mayor grado de afectación, encontrando la existencia de tolerancia metabólica; en donde a pesar de que la madre estuvo en condiciones parecidas de exposición durante gestaciones sucesivas, el primer producto se encontró más afectado que el segundo y consecutivos.^{1,2}

✚ Los casos en que existió únicamente exposición temporal en el primer trimestre de la gestación, se observó alteración cráneo-facial y músculo-esquelética con poco daño cerebral y si la exposición solo fue durante el tercer trimestre, existió una mayor alteración del SNC.¹

C. ODONTOGÉNESIS.

Durante la quinta y octava semana de vida intrauterina, se presenta la diferenciación y desarrollo de diversos tejidos, entre ellos, a partir del día 37 de desarrollo embrionario se manifiesta la formación de los órganos dentarios.^{9,16,17} En este momento inicia la proliferación de la lámina dentaria, que corresponde a la capa interna del ectodermo, ya que la capa externa da origen al epitelio bucal del estomodeo. Es importante establecer que en la formación de un diente participan dos capas germinativas, que son el ectodermo, que da origen al órgano del esmalte dental, y el mesodermo que da origen a la dentina, el cemento y la pulpa dental.¹⁶⁻¹⁸ La formación de un diente depende fundamentalmente de la interacción con el ectomesénquima (considerada como una cuarta capa germinativa). En este proceso, la lámina dentaria prolifera invaginándose en el mesénquima en el sitio correspondiente al futuro diente^{16,17} y el órgano dentario en desarrollo pasa por las etapas de yema, casquete y campana.¹⁶

A finales de la sexta semana de vida intrauterina (45 días), el embrión mide aproximadamente 15mm. de longitud vértex-cóccix, y el epitelio de los maxilares embrionarios comienza a engrosarse adoptando una forma de herradura.^{9,16,17} Aquí se encuentran tanto la lámina vestibular como la lámina dentaria, ambas formadas por células de la capa basal y del estrato espinoso. Posteriormente, las dos láminas se separan teniendo cada una de ellas diferentes funciones. La lámina vestibular sufre engrosamiento mostrando seis o siete capas celulares y dará origen al epitelio bucal. En tanto que por debajo, la lámina dentaria, dará lugar al desarrollo de los órganos dentarios; al mismo tiempo se observa acumulación de células ectomesenquimatosas, las cuales tienen núcleos redondos u ovoides. En este estadio ya pueden observarse terminaciones nerviosas en las proximidades de la lámina dentaria, no así en la lámina vestibular.¹⁷⁻¹⁹ Durante esta etapa,

la lámina dental presenta actividad continua y localizada con la formación de una serie de proliferaciones dentro del ectomesénquima, lo que corresponde a la posición de los futuros dientes deciduos, presentando gran actividad mitótica. En esta etapa, el desarrollo y proliferación de las células epiteliales es significativamente bajo en relación a los índices del ectomesénquima subyacente; ello sugiere que el crecimiento se da en el ectomesénquima proliferativo, el cual precede a los tres estadios que describen la morfología del germen dental durante su formación.^{16,17}

ESTADIO DE YEMA O DE BROTE.

Cuando el embrión mide aproximadamente 23 mm, al invaginarse en el mesénquima, la lámina dental forma un botón (Fig. 1).¹⁹ y se observa en forma de copa invertida. En esta etapa, el ectomesénquima crece hacia arriba, dentro de la parte cóncava de la copa epitelial y por medio de fenómenos de inducción, las células epiteliales que revisten la parte interna de la copa experimentan el proceso de citodiferenciación que las convierte en ameloblastos.^{16,17,19,20}

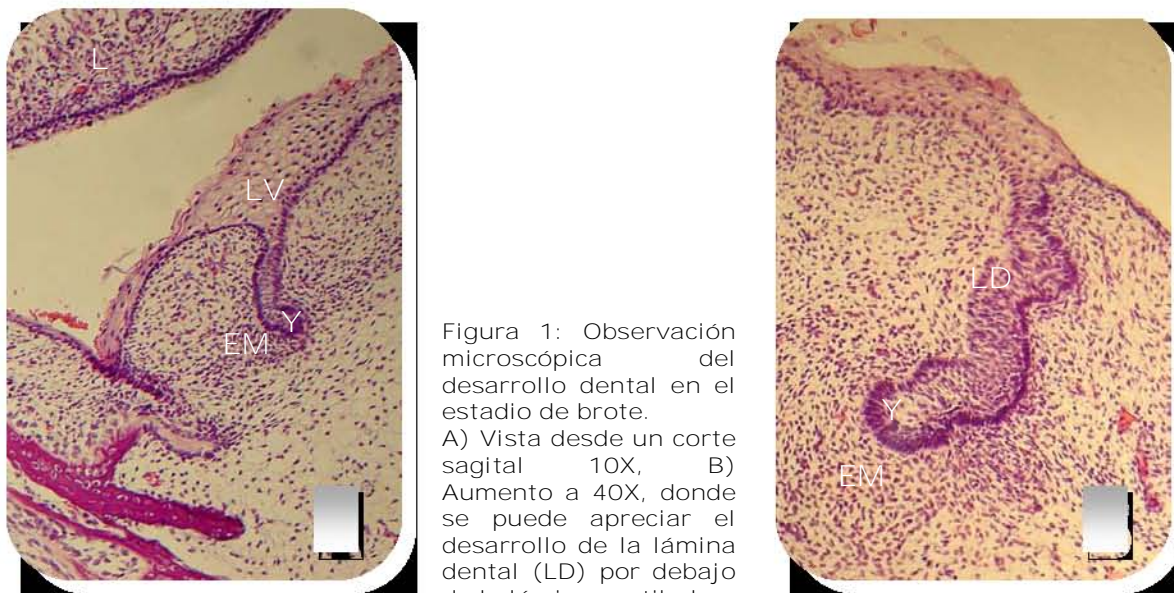


Figura 1: Observación microscópica del desarrollo dental en el estadio de brote.

A) Vista desde un corte sagital 10X, B) Aumento a 40X, donde se puede apreciar el desarrollo de la lámina dental (LD) por debajo de la lámina vestibular

(LV) formando en la parte más profunda la yema dental (Y) la cual se encuentra rodeada de células ectomesenquimatosas indiferenciadas. FUENTE DIRECTA

En tanto que las células ecto-mesenquimatosas adyacentes a los ameloblastos se diferencian y dan lugar a los odontoblastos. Por consiguiente, la corona anatómica de un diente se desarrolla a partir de dos diferentes capas germinativas.^{16,17,19}

Durante el desarrollo de los dientes, la cresta neural juega un importante papel debido a que en esta zona se localiza la información para el inicio de la formación dental y de la interacción entre el epitelio y el mesénquima.^{16,17} El ectomesénquima de la papila se combina con el epitelio y da origen a las características del órgano dental, junto con los genes homeobox (secuencia de ADN específica que forma parte de los genes implicados en la regulación del desarrollo de los animales. Los genes que tiene un homeobox se llaman gen *Hox* y forman la familia de genes *Hox 1*)^{17,21} expresados en el ectomesénquima, el germen dental pasa por los procesos de morfo e histodiferenciación sin existir una clara diferencia inicial entre ellos.¹⁶⁻¹⁸

El estadio de brote se caracteriza por el inicio de la proliferación, del epitelio bucal, formando una invaginación, la cual comprende al epitelio vestibular en la superficie y a la lámina dental. En esta etapa, las células epiteliales comienzan a formar la línea epitelial alrededor del tejido que forma la estructura. A la par, principia la diferenciación y proliferación de las células ectomesenquimatosas, las cuales son el origen del complejo dentino-pulpar. La diferenciación empieza con el empaliamiento celular de la papila ayudada por la presencia de células epiteliales y de sus productos excretados. En este estadio comienza a formarse el futuro alveolo óseo e histológicamente pueden detectarse mucopolisacáridos ácidos en el mesénquima condensado. La yema epitelial contiene ácido ribonucleico (ARN) y enzimas con actividad hidrolítica y oxidativa en cantidades superiores a las del epitelio vestibular, siendo ésta más pobre en glucógeno.^{17,19}

ESTADIO DE CASQUETE O GORRA.

Cuando el embrión mide 35 mm. inicia el llamado estadio de casquete, que se caracteriza por la invaginación del epitelio del germen dentario en el seno del mesénquima subyacente.^{9,17,19} Durante esta etapa, la proliferación dentro del ectomesénquima aumenta la densidad celular en la zona adyacente al epitelio invaginado, a este proceso se le denomina "*condensación*" del ectomesénquima, y es el resultado de la agrupación local de células productoras de sustancia extracelular. En este estadio del desarrollo dental ya es posible la identificación de elementos formativos de los tejidos¹⁶. Cuando el embrión mide aproximadamente 60 mm. de longitud, se observa la formación de las capas interna y externa del órgano del esmalte y la aparición de una zona central de células, dispuestas en forma muy apretada denominada "*nódulo del esmalte*".^{16,17,19} En su superficie, el epitelio invaginado semeja un casquete; siendo éste el sitio de la condensación ectomesenquimatososa, quien es la responsable de la producción de factores que intervienen en la diferenciación de la dentina y el establecimiento de la unión dento-gingival. La condensación ectomesenquimatososa limita la papila dental y encapsula el órgano dentario (folículo dental), dando apoyo a los tejidos del diente (Fig. 2).^{16,17}

Histoquímicamente se detecta un aumento en la actividad de fosfatasa alcalina y los mucopolisacáridos ácidos aparecen en pequeñas cantidades dentro de la sustancia intercelular de las áreas centrales del órgano del esmalte.¹⁹

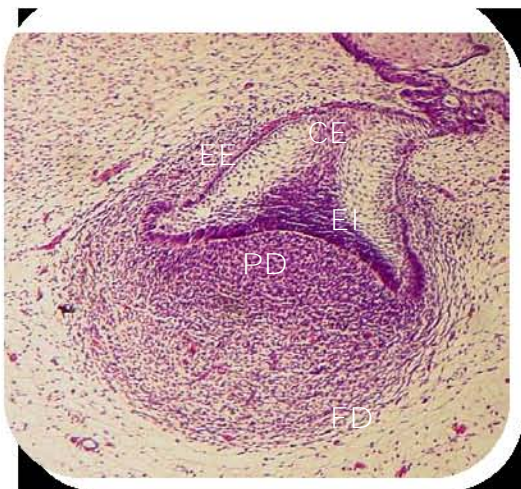


Figura 2: Corte histológico durante el estadio de casquete. El epitelio del órgano dental formado por el epitelio externo (EE) el cordón de esmalte (CE) y el epitelio interno (EI) se sitúa sobre un acumulo de células ectomesenquimatosas, la papila dental (PD) se extiende solo por el borde del órgano dental formando el folículo dental (FD). FUENTE DIRECTA.

ESTADIO DE CAMPANA.

Este estadio se alcanza cuando el feto mide 70 mm. En el órgano del esmalte ya están diferenciadas las capas externa e interna del órgano del esmalte, estrato intermedio y retículo estrellado. El desarrollo característico del retículo estrellado en la porción central no se completa hasta que aparecen los vasos del tejido conjuntivo circundante y se invaginan hacia la porción externa del epitelio externo. Además, se acentúan las células compactas llamado "*cordón del esmalte*" (Fig. 3). Esta estructura no desaparece hasta que el feto mide 110 mm.^{19,22} Las células en el centro del órgano del esmalte continúan sintetizando y secretando glucosaminoglucanos en la sustancia extracelular; éstos son hidrofílicos, por lo que permiten la entrada del agua hacia dentro del órgano del esmalte, aumentando la cantidad de líquido extracelular y aumenta el volumen del órgano del esmalte.^{16,22}

En este estadio, el órgano del esmalte parece una campana por debajo del epitelio. Importantes cambios iniciados en el estadio de casquete continúan durante el desarrollo del germen dental. Estos cambios terminan con la histodiferenciación de la masa celular, dando origen a los epitelios externo,

intermedio e interno del órgano del esmalte, presentando células cuboidales en la periferia, las cuales forman el epitelio externo.^{16,22}

Las células del borde de la papila dental se diferencian en dos tipos microscópicamente distintos. Los inmediatamente adyacentes a la papila dental asumen una forma cúbica, y se caracterizan por un alto contenido de glucógeno. Las otras células forman una línea interna del epitelio dental y cuya subsecuente diferenciación junto con el retículo estrellado, forman un acumulo de células llamadas del estrato intermedio; estas células se caracterizan por la gran actividad de la enzima fosfatasa alcalina. La función singular de las células del epitelio interno es la responsable de la diferenciación de los ameloblastos encargados de la formación del esmalte.^{16,17,20} Los epitelios interno y externo del órgano del esmalte, dan como resultado de esta unión, una zona conocida como "*asa cervical*".^{16,17,22}

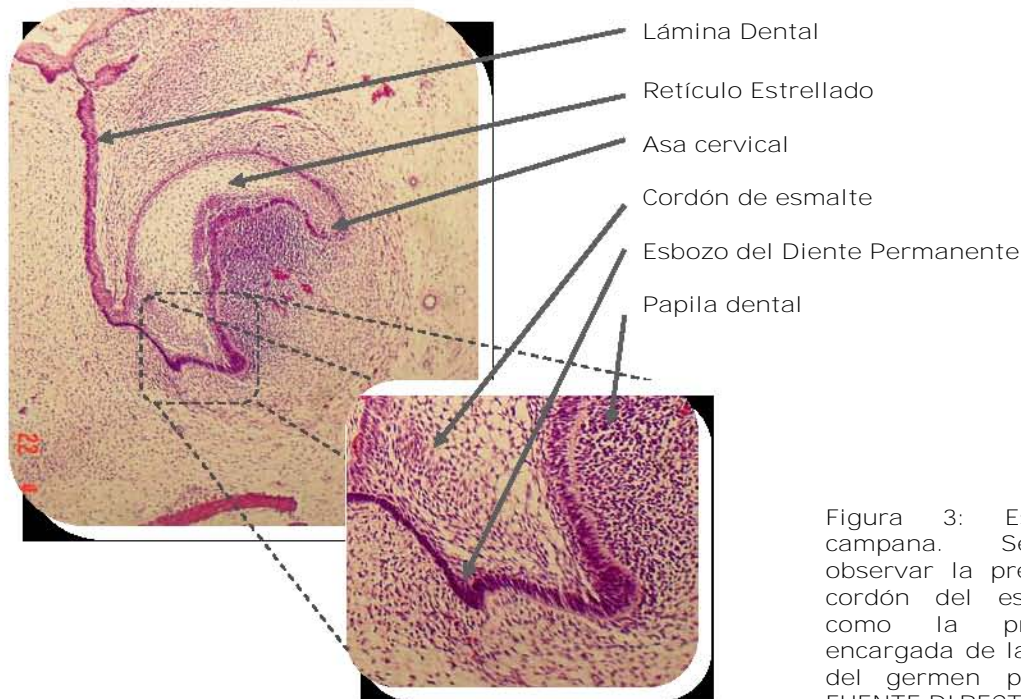


Figura 3: Estadio de campana. Se puede observar la presencia del cordón del esmalte, así como la prolongación encargada de la formación del germen permanente. FUENTE DIRECTA.

La primera formación de predentina tiene lugar cuando el feto alcanza una longitud de 120 mm. Siendo posible el detectar el primer depósito de sales cálcicas, además de ser el momento del comienzo de la amelogénesis. El germen dentario queda rodeado por el saco dentario, el cual está formado por haces de fibras colágenas orientadas y condensadas periféricamente con respecto al sáculo y el alveolo crece alrededor del germen dentario.^{16,19,22}

Histoquímicamente se puede observar disminución de la cantidad de colágena en las áreas centrales y, a medida que se desarrolla el retículo estrellado, las porciones interna y externa del epitelio del órgano del esmalte, así como el estrato intermedio, se enriquecen de polisacáridos. La actividad de fosfatasa alcalina se lleva a cabo en el retículo estrellado y en el estrato intermedio.²⁰ Aumenta la presencia de mucopolisacáridos ácidos entre las células del órgano del esmalte y cuando comienza el proceso de mineralización, existen grandes cantidades de mucopolisacáridos en el retículo estrellado y entre las células del estrato intermedio.^{19,22}

D. SOLVENTES ORGÁNICOS.

Los solventes son aquellas sustancias que disuelven a otra (soluto) sin provocar cambios en la composición química. Dentro de estos solventes cuyo nombre general es éteres de glicol, se encuentran el EG y MC.²³

1. ETILÉN GLICOL.

El etilén-glicol o 1,2 etanodiol cuya fórmula es HO-CH₂-CH₂-OH es un alcohol con dos grupos hidroxilo^{1-4,24,25} Fue descubierto en 1859, por Wurtz; éste primer derivado llegó a ser comercialmente importante alrededor de 1925, cuando la Unión Carbide lo fabricó a gran escala en el sur de Charleston, al oeste de Virginia, usando el proceso de clorohidrina.²⁶

Dentro del mercado y la industria, se le han conferido diversos nombres, entre los que se encuentran: Fenoxietol, alcohol fenoxietílico, 1-hidroxi-2-fenoxietano, éter rosa, fenil celosolve, éter fenil monoglicol, 2 fenoxietanol, éterglicol monofenil, hidroxietil fenil éter, 1,2 etanodiol.²⁷⁻²⁹

Dentro de sus propiedades físicas se cataloga a éste como un líquido amarillo, de consistencia viscosa cuyas propiedades químicas son:

- ✚ Punto de fusión: en el rango de 14 -16°C. ³⁰
- ✚ Presión del vapor: 0.01-0.06 mm Hg a 20°C. ³¹
- ✚ Densidad: 1.102.
- ✚ Densidad del vapor: 4.76=1.
- ✚ Densidad a 20°C: 1,113. ³⁰
- ✚ Punto de ebullición: 197°C. ^{17,28,30}
- ✚ Gravedad específica: 1:1 a 20°C/14°C. ^{29,32}
- ✚ Temperatura mínima de autoignición: 400°C. ³⁰
- ✚ Punto de inflamación (como combustible líquido): 111°C. ^{17,18,29,30,32}

- ✚ Peso molecular: 62. ²⁶
- ✚ Concentración utilizable: 58% por volumen. ²⁶
- ✚ Color del código de almacenaje: anaranjado (almacenamiento general). ³³

Los glicoles inferiores son miscibles en agua y los que tienen hasta 7 átomos de carbono presentan solubilidad, en la cual tienden a formar puentes de hidrógeno. Al ser miscible en agua, el EG es un constituyente importante de anticongelantes en la industria automotriz y en la producción de fibras sintéticas. Dentro de sus características químicas, destacan su bajo punto de fusión y alta solubilidad.^{27,28}

Este alcohol se obtiene a partir de la hidratación del óxido de etileno,³⁴ siendo incompatible con el ácido clorhídrico y agentes fuertemente oxidantes. Por su misma volatilidad es combustible²⁷. Reacciona violentamente con ácido clorosulfúrico, aceite y ácido perclórico, causa ignición a temperatura ambiente en combinación con trióxido de cromo, permanganato de potasio y peróxido de sodio. Asimismo, también causa ignición con dicromato de amonio, clorato de plata y clorato de sodio a 212°F (100°C).²⁸ Cuando se calienta, se descompone formando compuestos muy tóxicos, como lo son: dióxido y monóxido de carbono; con producción de humo cáustico.²⁸

Se considera tóxico por inhalación, contacto dérmico e ingesta, siendo irritante para la piel, mucosa ocular (donde puede causar serios daños), así como a mucosa de vías respiratorias.^{27,28,32} Cuando existe exposición a los vapores, ésta debe de extenderse por un período de tiempo, determinado por la idiosincrasia del individuo, causando irritación nasal y dolor de cabeza, con subsecuentes náuseas, vómito, mareos y somnolencia.^{35,36} Está reportado que el edema pulmonar y la depresión del Sistema Nervioso

Central pueden aparecer cuando se inhala el EG caliente; produciendo movimientos oculares involuntarios rápidos.^{28,33}

Los valores de toxicidad son:

ORL-RAT LD 50(LD 50 oral en rata): 1260 mg/kg.^{28,32}

SKN-RBT-LD 50 (LD en piel de conejo): 5000 mg/kg.^{28,32,37}

LD: (Dosis letal humana) 100 ml (3-4 onzas).^{28,32,33,38}

El consumo intencional del EG en adultos es generalmente en la forma de anticongelante como sustituto del alcohol o como agente suicida.²⁸ De igual forma, los accidentes que involucran la ingestión de EG suceden frecuentemente en niños. De acuerdo con el reporte anual de la Asociación Estadounidense del Centro de Control de Envenenamientos, en 1996, el 18% de los individuos envenenados con EG fueron niños menores de 6 años³⁹. Cuando se ingiere el EG en forma de anticongelante u otros productos automotrices, existe depresión del SNC, déficit cardio-pulmonar e insuficiencia renal.^{28,39}

Las manifestaciones clínicas por envenenamiento con EG son:

- ☠ Desvanecimiento,
- ☠ Crisis epilépticas
- ☠ Coma.

Los síntomas aparecen en tres fases distintas:

- ☠ Fase de afectación gastrointestinal y del SNC, las alteraciones se presentan dentro de las primeras 12 a 24 horas.
- ☠ Fase de afectación cardio-pulmonar, en donde se destaca la hipoventilación.
- ☠ Fase de afectación renal, la cual es potencialmente irreversible después de 24 a 72 horas.^{28,40}

En dosis masivas, los síntomas iniciales progresan de forma acelerada a depresión del SNC; vómito, dolor de cabeza, hiperventilación, hipotensión, estupor e inconsciencia con presencia de convulsiones. Está reportada la muerte por fallo respiratorio o colapso vascular.^{28,33} Las personas con enfermedades dermatológicas, oculares, hepáticas, renales o con disnea pueden presentar mayor susceptibilidad a los efectos de esta sustancia.³³

Metabolismo.

El EG se metaboliza por oxidación, efectuada por la alcohol deshidrogenasa; el EG primero se convierte en ácido glicólico y finalmente en ácido oxálico.^{28,32,29,41} En caso de envenenamiento por EG, las principales alteraciones bioquímicas que se observan son: acidosis metabólica con uniones aniónicas, aumento de las uniones osmolares, cristaluria por oxalato de calcio así como detección de EG en suero.^{42,43} Este estado acidófilo está causado por la acumulación de metabolitos ácidos y el aumento en la producción de lactato. Posteriormente, la consecuencia es la transformación del piruvato a lactato, lo cual ocurre con la formación de Nicotinamida Adenin Dinucleótido (NADH) a partir de la NAD (Fig. 4), ambas moléculas oxidan los xenobióticos ingeridos.^{39,41,44}

Debido a sus características químicas, el EG se absorbe rápidamente (de 30 a 60 minutos) a través del tracto gastrointestinal.^{28,32,39} En caso de envenenamiento, el oxalato de calcio se excreta no sólo como cristales dihidratados, los cuales tienen un aspecto dipiramidal u octaédrico, sino también como cristales monohidratados en forma de huso o prismas. Otras formas de cristales de oxalato de calcio incluyen, ovoide, "de pesa" y cristales elípticos.^{28,39,42,43}

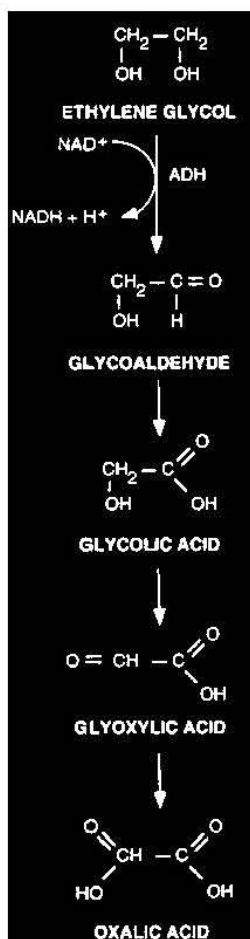


Figura 4. Diagrama del metabolismo del EG. ³⁸

El tratamiento en casos de envenenamiento por EG consiste en inyecciones intravenosas de etanol y 4-metil-pirazol, ya sea de manera individual o conjugada.^{28,41} El lavado gastrointestinal se debe considerar como tratamiento solo en casos de ingestión, y si la misma ocurrió inmediatamente antes de la presentación del paciente al hospital; este tratamiento se emplea generalmente en personas que sufren envenenamiento por EG, debido a su rapidez de absorción posterior a su ingestión. EG se puede remover del tracto gastrointestinal induciendo hemesis.^{29,39,40,45} Además se puede administrar etanol para que actúe inhibiendo competitivamente el metabolismo del EG y sus metabolitos; aunque la terapia con etanol está asociada a la depresión neurológica y es necesario el monitoreo frecuente

durante la hemodiálisis para mantener las concentraciones apropiadas de etanol en suero.³⁹

Debido a que la acidosis es el resultado de la ingestión del EG, se recomienda la alcalinización con bicarbonato. Asimismo, se utiliza la hemodiálisis para disminuir y remover los compuestos tóxicos (ácido fólico); Este proceso remueve rápidamente tanto al EG como a sus metabolitos tóxicos, particularmente al glicolato y oxalato; siendo mejor la hemodiálisis despejada que la hemodiálisis renal, aunque la funcionalidad de los riñones es la que contribuye finalmente a remover el EG de la sangre.^{39,40,43} Recientemente, la Agencia para el Control de Alimentos y Medicamentos (FDA), de los Estados Unidos aprobó el antizol, un inhibidor de la alcohol-deshidrogenasa, como antídoto contra el envenenamiento por EG. Esta droga sola o en combinación con diálisis parece ser efectiva en el tratamiento de los efectos de la intoxicación.⁴⁰ Otra terapia reciente es la co-administración de tolueno y xileno como antagonistas de la toxicidad testicular, aunque no son efectivos en la toxicidad hematopoyética.⁴⁵

En casos de emergencia toxicológica, el EG se puede cuantificar usando la cromatografía de gases o métodos enzimáticos. El uso de la espectroscopía por resonancia magnética nuclear de protones (HNMR), la cual calcula la presencia de EG entre otras sustancias y que fue sugerida por Bock en 1982; puede usarse para el análisis de un amplio rango de compuestos endógenos en líquidos biológicos y para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos tóxicos.^{28,41,44} También se emplea el método de isotacoforesis, el cual puede medir cuatro de los metabolitos ácidos mayores.³⁹

El uso industrial de los éteres glicolados aumentó en los años recientes, sumado al desarrollo de muchos solventes nuevos de este tipo, los cuales se introdujeron en los procesos industriales. Estos compuestos son solventes

efectivos usados particularmente en pinturas cuya base es el agua, uso basado en sus características químicas y buena solubilidad tanto en sustancias hidrofílicas e hidrofóbicas; también se emplean en la fabricación de líquidos hidráulicos, agentes transmisores de calor y humectantes, en la fabricación de celofán, fibras sintéticas, papel, artículos de piel y adhesivos.^{15,26,28,32,46,47} Se usa de forma variable en la cosmetología, empleándolo como fijador en perfumes y cosméticos; también se usa como bactericida, en combinación con compuestos de amonio cuaternario; así como antiséptico de aplicación tópica, repelente de insectos, solvente de celulosa, acetato, tinturas y resinas; en la síntesis orgánica de plastificadores, en germicidas y fabricación de productos farmacéuticos, como conservadores.^{15,28,29,30,32,37,46,47} Otros modos de empleo son: como humectante industrial, solvente para boratos en condensadores electrolíticos (uso aplicado en una comunidad fronteriza de México)^{1,2,8,12,13} en la formulación de varios tipos de tintas, como agente suavizante de celofán, estabilizador para espuma (la cual se emplea para extinguir incendios provocados por aceites y gasolina); vehículo en preparaciones farmacéuticas, en extractos para alimentos y saborizantes.^{38,48} Asimismo, en la actualidad, se estudia el reconocimiento celular del EG como nanopartículas⁴⁹ Dentro de procesos químicos industriales, se emplea para la síntesis de varios productos dentro de los que destacan la fabricación de un monómero reactivo en el proceso de polimerización del poliéster y se usa como crioprotector en laboratorio, ello debido a las propiedades de vitrificación con baja toxicidad sobre embriones y óvulos.^{15,29,30,34,50,51}

Acción teratogénica

No es de desconocimiento médico, que algunos éteres glicolados pueden causar enfermedades debido al rápido cambio de EG, metil y etil éteres (y sus acetatos), a otros éteres glicolados capaces de convertirse en sustancias capaces de generar atrofia testicular con los subsecuentes alteraciones en la

espermatogénesis,⁵² así como depresión de médula ósea, participación como teratogénicos y fototóxicos, aunque en este rubro, la literatura es muy escasa.^{14,37,45,53} En contraste, un cambio demasiado rápido de los éteres glicolados (EG, éteres butílicos, éteres propílicos, éteres isopropílicos y fenil éteres), no causan alteraciones tisulares, pero, es causa de fragilidad eritrocítica en ratas, con un grado mayor de afectación que en los eritrocitos humanos debido a su menor sensibilidad a la hemólisis; siendo el EG fenil éter el agente hemolítico más potente.²⁸

Los efectos del EG sobre la reproducción en otras especies, tal es el caso de *Ceriodaphnia dubia*, o ratones, presentando efectos adversos en el desarrollo y formación de los productos.^{46,54} Una característica que llama la atención es la que se encuentra relacionada con su toxicidad como solvente, ejemplificados por su amplio rango de actividad como polímeros así como sus propiedades "*in vivo*", las cuales han sido confirmadas por la detección de estas sustancias en sangre después de aplicar monometil éter de EG en el brazo y sumergir los dedos en butil éter de EG.⁵⁵

Algunos dosis experimentales de irritación en diferentes animales, son:

- ☠ Piel de conejo. 500 mg (24 h).
- ☠ Ojo de conejo 6 mg (24 h).
- ☠ Ojo de conejo 0.25 mg (24h).³⁷

Junto con el EG, sus derivados como el monoetil éter de EG (EGMME), monometil éter de propilén glicol (PGMME), acetato de monometil éter de propilén glicol (PGMMEac) y butil éter de 2-propilén glicol (2PG1BE) presentan datos de toxicidad.^{28,29,55-57}

2. METIL-CELOSOLVE

Se considera como un Alcohol éter alifático cuya formula es:

$C_3H_8O_2 = H_3C-O-CH_2-CH_2-OH$, conocido con los nombres de Metoxietanol, metilcelosolve o etilén glicol metil éter.^{1-4,27} Físicamente es un líquido incoloro de olor agradable, suave, con peso molecular de 76.1, dentro de sus propiedades químicas se destacan:

- Líquido estable, miscible en hidrocarburos, alcoholes, acetonas, benceno, glicerol, glicoles y agua, se considera combustible.
- Punto de ebullición: 124.5°C.
- Densidad: 0.963 (20/20°C).
- Índice de refracción: 1.4021 a 1.4028 (20 °C).
- Punto de inflamación: 43.3°C.
- Límite flamable a concentración en aire: 2.5-19.8% a temperatura elevada.
- Punto de congelación: -85.1 a -86.5°C.
- Temperatura de auto ignición: 288°C.
- Temperatura mínima de ignición en aire: 383°C.
- Obtención a partir de óxido de etileno.¹⁶

Sus usos son diversos, se puede encontrar como disolvente de nitrocelulosa, acetato de celulosa; solventes en agua, resinas naturales y sintéticas, mezclas disolventes, en lacas, esmaltes, barnices, cuero, como fijador de perfumes, en colorantes para madera; en el procesamiento de celofán impermeable; como aditivo en anticongelantes y para combustibles a propulsión.²⁷ También se emplea en la industria alimenticia, en suplementos, aditivos, gomas de mascar y aves; agregándose con los propósitos de conservar la comida del deterioro por bacterias, protegerla de los cambios oxidativos y mejorar sus características organolépticas o su textura.⁵⁸

Asimismo se emplea como constituyente de pinturas cuya base es agua; agente anticongelante de combustible para aviación; pesticidas, jabones líquidos, soluciones para limpieza, cosméticos y diluyente en los líquidos hidráulicos.^{50,60}

Se considera un compuesto tóxico por ingestión e inhalación con riesgo moderado de incendio,^{27,59,60} emite humo cáustico y gases irritantes.⁵⁸

TLV (Threshold limit value): 25 partes por millón, 80 mg/m³.⁵⁸

TWA (Time weighted average): 5 partes por millón (piel).⁵⁸

LD50 (vía oral en rata): 2460 mg/kg (Ash y Ash, 1995).⁵⁸

Su concentración límite de uso permitido en aves es de 0.15%. En estudios previos en concentraciones menores o iguales a 25 partes por millón, se reportaron cambios neurológicos y hematológicos. Encontrando en los hallazgos post mortem hemorragia gástrica y renal, así como cambios en el hígado, causando la muerte por ingestión. No causa irritación severa en la piel, pero en cantidades por encima de los límites permisibles, es absorbible a través de ésta; asimismo, en contacto con ojos, produce dolor de manera inmediata. El MC causa daños al sistema reproductor masculino, sistema hematopoyético y en el desarrollo fetal y embriológico.⁶⁰

Estudios previos establecen el importante papel de la alcohol deshidrogenasa en el desarrollo de la toxicidad del MC, debido a que un período prolongado de exposición al mismo, aumenta el riesgo de toxicidad, específicamente testicular, ello debido al aumento en la actividad de la alcohol-deshidrogenasa, resultando en una mayor producción de ácido metoxiacético³⁰.

Metabolismo.

La alcohol deshidrogenasa (ADH), es una enzima guía en el metabolismo de los glicol-éteres. Tres isoenzimas de la ADH han sido detectadas en los tejidos de rata. El hígado contiene dos de éstas, una isoenzima anódica ADH-2 y una enzima catódica ADH-3. En relación a las mayores concentraciones de la isoenzima anódica ADH-1, se encuentran en los órganos que están en contacto inmediato con el exterior como la córnea, el estómago y el pulmón; indicando que la ADH-1 puede jugar un papel como el primer obstáculo metabólico contra los alcoholes externos y los aldehídos.⁶¹ El MC se metaboliza por la vía de la ADH-3, observando por la vía hepática *in vitro*, la mayor expresión de ADH en ratas de sexo femenino, con lo que se presume la mayor capacidad de eliminación del MC en ratas hembras.⁶¹

Kawamoto et al. (1990) establecieron el metabolismo del MC, el cual se oxida, formando ácido metoxiacético por la aldehído deshidrogenasa. Una parte de este ácido se conjuga con glicina y forman metoxi-acetil-glicina en un periodo de dos a tres horas después de administración del MC en concentraciones del 90 al 100%. (fig. 5).⁶⁰

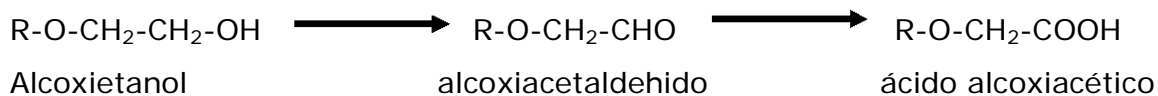


Figura. 5. Metabolismo de los éteres glicolados.⁶¹

El MC se excreta por vía renal, siendo ésta la vía más efectiva y rápida, secundando otras rutas de eliminación como el sistema respiratorio y el digestivo.⁶²

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Día con día, un mayor número de mujeres en edad fértil se incorporan a la planta laboral, siendo la maquila industrial una de las principales fuentes de empleo femenino en donde el uso y manejo de solventes orgánicos sin las medidas de protección adecuadas ocasiona el surgimiento de diversos trastornos de tipo congénito en los productos de aquellas trabajadoras que se encuentran en etapa de gestación. En base a los hallazgos encontrados por Saavedra et al. (1996-7-8) surge la interrogante a si ¿el uso de solventes orgánicos puede ocasionar alteraciones de tipo odontogénico en animales de experimentación semejantes a las alteraciones de tipo dental observados en la población de Matamoros, donde únicamente se establecieron tres alteraciones en los sujetos afectados bajo examen radiográfico; agenesia (43%), agrandamiento de cámara pulpar (taurodontismo) en el 57% y alteración en relación a la longitud de la raíz (43%), sin determinar con mayor precisión si existían algunas otras alteraciones.

Si bien la población con mayor riesgo es la empleada por las industrias, cuya materia prima usa solventes orgánicos como el EG y el MC, no se debe olvidar que dichos solventes forman parte de formulaciones químicas en una amplia gama de productos de uso cotidiano, con los que están en contacto la población en general además de la de alto riesgo.

La presencia de nuevos síndromes, como el de éteres del glicol o de Saavedra, ponen en tela de juicio las medidas de seguridad utilizadas en la industria y hace necesario establecer y hacer del conocimiento del público general el riesgo innato del uso tanto industrial, como personal y doméstico, de cualquier sustancia con capacidad teratogénica.

V. JUSTIFICACIÓN.

Dada la amplia aplicación de los solventes orgánicos en la elaboración de productos de uso cotidiano como son cosméticos, pinturas, baterías y productos farmacéuticos por mencionar algunos, estos pueden llegar a ocasionar un efecto aditivo a corto, mediano o largo plazo en relación a la concentración, pudiendo inducir efectos teratogénicos genotípicos y posiblemente de índole genómico por lo que, es importante realizar un estudio que permita por un lado conocer las alteraciones que provocan los solventes EG y MC durante el desarrollo de los órganos dentales y comprender los cambios que tienen lugar durante el proceso de morfo-diferenciación durante la odontogénesis. Por otro lado identificar las posibles repercusiones odontogénicas expresadas a nivel clínico que puedan resultar por el manejo indiscriminado o inadecuado de dichos solventes.

VI. HIPÓTESIS.

H₁: La administración de la mezcla de EG y MC a ratas hembras preñadas, provocará alteraciones de tipo teratogénico en gérmenes dentales de los fetos.

H₀: La administración de la mezcla de EG y MC a ratas hembras preñadas, no provocará alteraciones de tipo teratogénico en gérmenes dentales de los fetos.

VII. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Establecer microscópicamente los cambios celulares y morfológicos presentes en los gérmenes dentales de fetos de grupos experimentales por efecto de los solventes EG y MC y compararlos con las características de los fetos de grupos control, para establecer una relación causa–efecto.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- ✚ Determinar los cambios citomorfológicos en los gérmenes dentales de primer y segundo molares, tanto superiores, como inferiores de los productos obtenidos por cesárea a los cuales se les administró el tratamiento con dosificación de EG y MC a concentraciones de 5, 10 y 20% administrados por VO y VIP a dosis de 0.5 mL diarios.
- ✚ Comparar con el grupo control si existen diferencias morfológicas a nivel estructural y establecer que tipo de alteración observada.
- ✚ Establecer las medidas del perímetro y área de los gérmenes dentales en los grupos control y experimentales.
- ✚ Comparar los resultados obtenidos entre los diferentes grupos, por medio de análisis estadísticos.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.

TIPO DE ESTUDIO.

Experimental

Transversal

A. METODOLOGÍA.

Se emplearon 35 ratas hembras adultas cepa Wistar, con una edad de 2 meses y peso en el rango de 200 a 250 gr., una vez preñadas fueron distribuidas en 7 grupos con 5 ratas cada uno (un grupo control y seis experimentales).

Los animales se mantuvieron en el Bioterio del Instituto Nacional de Pediatría (INP), bajo observación por el Médico Veterinario y Zootecnista por un periodo de catorce días para su adaptación, posteriormente se asignaron en forma aleatoria a cada uno de los grupos, alojándolas en cajas de acrílico. Se introdujo un macho a cada una de las cajas para su apareamiento, se consideró como día 1 a la aparición del tapón vaginal. Durante diecinueve días de gestación se les administraron los solventes EG y MC en una relación de 1:1, a concentraciones de 5% (1.038 g/Kg peso), 10% (2.076 g/Kg de peso) y 20% (4.152 g/kg de peso), por vía oral (VO) administrado en el agua de beber, e intraperitoneal (VIP) por medio de inyección en la zona del abdomen, en ambos casos la dosis diaria fue de 0.5mL. El grupo control, no recibió ninguna manipulación. Todos los grupos fueron alimentados con la misma dieta en las mismas condiciones.

La distribución de los grupos en relación a la vía de administración y dosis fue la siguiente:

Grupo control: No recibió manipulación ni solvente alguno, sólo agua.

- ✚ Grupo experimental 1. Mezcla de EG y MC al 5% en relación de 1:1, administrada por VO, 0.5 mL.
- ✚ Grupo experimental 2. Mezcla de EG y MC al 5% en una relación de 1:1, administrada por VIP, 0.5 mL.
- ✚ Grupo experimental 3. Mezcla de EG y MC al 10% en una relación de 1:1, administrada por VO, 0.5 mL.
- ✚ Grupo experimental 4. Mezcla de EG y MC al 10% en una relación de 1:1, administrada por VIP, 0.5 mL.
- ✚ Grupo experimental 5. Mezcla de EG y MC al 20% en una relación de 1:1, administrada por VO, 0.5 mL.
- ✚ Grupo experimental 6. Mezcla de EG y MC al 20% en una relación de 1:1, administrada por VIP, 0.5 mL.

Debido a que la gestación a término de esta cepa dura 20 días⁶³, se estableció el día 19 para la cesárea de la rata madre y obtención de los productos, para lo cual se sedaron a los animales con Propioliil prozamina (Combelen[®]), para la posterior cirugía, con la extirpación completa del útero y la obtención de los fetos con sus placentas individuales o en su caso determinar la presencia de reabsorciones (Fig. 6).

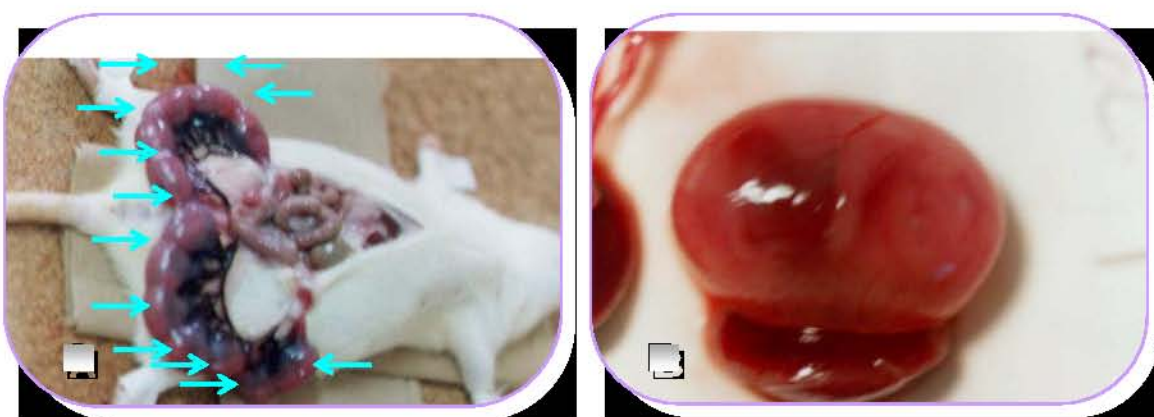


Fig. 6 A) Después de la sedación de la rata madre, se realizó la cesárea, con una incisión en el abdomen, para extirpar el útero en su totalidad, nótese las numerosas placentas (12) (flechas). B) Acercamiento de una placenta posterior a ser retirada del útero donde se aprecia un feto en su interior.

Las placentas se lavaron en agua corriente, se disecaron con sumo cuidado y en base a su estado al momento de la cesárea, los productos se catalogaron como: vivos, muertos o reabsorciones (Fig. 7 y tabla 1). Inmediatamente se sumergieron en un recipiente de plástico con solución amortiguada de formalina al 10%, etiquetando éste con la clasificación numérica de grupo, rata y producto. Los días de cesárea fueron escalonados, debido al tiempo de gestación y las cirugías programadas, evitando de esta manera que los productos llegaran a término.

Los fetos fueron observados macroscópicamente para determinar alguna alteración externa presente en ellos, posteriormente se tomaron 3 fetos de manera aleatoria de cada rata para ser procesados de manera convencional. Los productos previamente fijados, se procesaron en forma automatizada en un Histokinette[®], se incluyeron en parafina y se obtuvieron cortes seriados a 3 μm de espesor, se tiñeron con Hematoxilina y Eosina y Tricrómica de Masson. Los cortes se observaron en un microscopio Carl Zeiss[®] Standard 25 ICS, realizándose la revisión de laminillas a doble ciego, con los lentes de 5x, 10x 40x y 100x, localizando los gérmenes dentales de primeros molares, además se realizó la medición del perímetro del germen del primer molar inferior de todos los grupos de estudio, con lo que se obtuvo su área en milímetros cuadrados (mm^2), para lo cual se utilizó un ocular cuadrado cuya relación a campo de 40x es de 0.2 mm. Se tomaron fotomicrografías por medio de una cámara digital marca Sony[®] modelo DSC-P9 y se evaluaron las alteraciones encontradas en los gérmenes dentarios, clasificándolas como: severa en el caso de agenesia (si no se encontraba el germen dental), moderada (de 4 a 7 parámetros) o leve (de 1 a 4 parámetros), los cuales se describen más adelante.

Se midió el área aproximada que ocuparon los gérmenes dentales con un micrómetro de ocular graduado en mm en tres laminillas diferentes y se

obtuvo el promedio (Tabla 4). En un campo de 40X un cuadro correspondió aproximadamente a 0.2 mm².

Parámetros:

- ✚ Dos o tres capas de ameloblastos.
- ✚ Pérdida de la polaridad de los ameloblastos
- ✚ Más de 5 mitosis en la capa ameloblástica por campo de 40x
- ✚ Retículo estrellado con poca celularidad
- ✚ Falta de ordenamiento de odontoblastos
- ✚ Poca vascularidad de la papila dental.
- ✚ Falta de organización del saco folicular.

Todos ellos en comparación con el grupo control.



Figura 7. Productos de ratas de diferentes grupos de estudio posterior a su fijación en formalina al 10% A) Grupo control, se observa la norma formación de la placenta y en su interior se encuentra un feto, a diferencia del B) Grupo experimental 5, donde se observan dos úteros con reabsorciones en su totalidad y la nula formación de productos.

Los datos obtenidos se almacenaron en un formato especialmente diseñado, para posteriormente descargarlos en el programa Microsoft Excel. Se realizaron tablas, y gráficas. No se pudo obtener la asociación entre las diferentes concentraciones de la mezcla EG y MC con las variables de agenesia, y retardo en el desarrollo, debido a la imposibilidad en el modelo matemático. (tablas 5 y 6)

B. MATERIAL

EQUIPO.

- ✚ Histokinette Leica Jung®
- ✚ Microtomo Leica Jung®
- ✚ Plancha termica
- ✚ Baño maría
- ✚ Microscopio Carl Zeiss® Standard 25 ICS
- ✚ Cámara digital Cyber-shot DSC-P9, Sony® 4.0 mega pixels

CRISTALERÍA.

- ✚ Matraces Erlenmeyer de 1000mL
- ✚ Vasos de precipitado de 1000mL
- ✚ Pipetas de 10mL

CONSUMIBLES.

- ✚ Portaobjetos
- ✚ Cubreobjetos
- ✚ Parafina
- ✚ Resina
- ✚ Cuchillas desechables
- ✚ Cajas plásticas porta laminillas

REACTIVOS.

- ✚ Etilen Glicol
- ✚ Metil Cellosolve
- ✚ Formalina al 10%
- ✚ Xileno
- ✚ Acetona
- ✚ Hematoxilina
- ✚ Eosina.

VARIABLES.

VARIABLES DEPENDIENTES.

Efectos teratogénicos.

 Agenesia dental

 Estadio de odontogénesis (brote y casquete)

Cambios morfométricos.

 Área promedio aproximada del órgano dental en mm²

VARIABLES INDEPENDIENTES.

Dosis de 0.5 mL de mezcla de EG y MC (concentraciones de 5, 10 y 20%)

Vías de administración (oral e intraperitoneal).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Ratas hembras de la cepa Wistar.

Productos con 19 días de gestación.

Compuesto de EG y MC en concentraciones del 5, 10 y 20%

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Ratas que:

- ✚ Manifestaron alguna enfermedad durante el periodo de observación.
- ✚ Presentaron la totalidad de sus productos muertos al momento de la cesárea.
- ✚ Presentaron la totalidad de desarrollo de tipo reabsorciones.

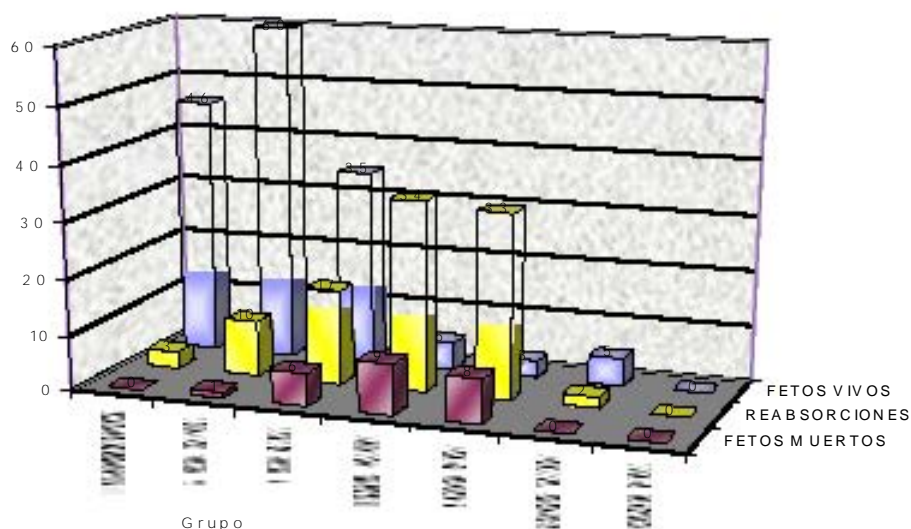
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Fetos de ratas que no presentaron ninguna formación de germen dental.

IX. RESULTADOS

De las 35 ratas gestantes, se obtuvieron un total de 178 productos, los cuales correspondieron a 154 vivos (86.5%), 24 muertos (13.5%) y 99 reabsorciones. En la Tabla 1 y Gráfica 1, se puede observar que los productos de los grupos 5% VO e IP se obtuvieron el mayor número de productos vivos (60 y 35 respectivamente), lo cual es contrastante con los grupos de mayor concentración.

Gráfica 1. Distribución de Fetos en base a su cantidad



Gráfica 1 Distribución de los productos obtenidos de las ratas madre, clasificados en vivos, muertos y reabsorciones, cabe destacar el grupo 20% IP donde no tuvo presencia de desarrollo alguno.

En el grupo experimental de 20% VO disminuyó la capacidad de desarrollo embrionario con solo 5 fetos vivos y 2 reabsorciones, y en el grupo experimental de 20% VIP no se obtuvieron fetos vivos ni muertos así como tampoco reabsorciones, por esta razón se repitió la fase experimental de este grupo en tres ocasiones, modificando el lugar de estancia (bioterio) sin que en ninguna de las recreaciones se consiguiera la obtención de productos.

Número y porcentaje de productos obtenidos por grupos de estudio				
GRUPO	FETOS VIVOS 	FETOS MUERTOS 	REABSORCIONES 	TOTAL
CONTROL	46 (93.87%) (29.87%)	0 (0%) (0%)	3 (6.13%) (3.03%)	46 (100%)
MEZCLA 5% V.O.	60 (84.50%) (38.96%)	1 (1.40%) (4.17%)	10 (14.1%) (10.10%)	61 (100%)
MEZCLA 5% I.P.	35 (60.35%) (22.73%)	6 (10.35%) (25.0%)	17 (29.3%) (17.17%)	41 (100%)
MEZCLA 10% V.O.	5 (10.41%) (3.24%)	9 (18.75%) (37.5%)	34 (70.84%) (34.34%)	14 (100%)
MEZCLA 10% I.P.	3 (6.82%) (1.96%)	8 (18.18%) (33.33%)	33 (75.0%) (33.33%)	11 (100%)
MEZCLA 20% V.O.	5 (71.43%) (3.34%)	0 (0%) (0%)	2 (28.57%) (2.02%)	5 (100%)
MEZCLA 20% I.P.	0 (0%) (0%)	0 (0%) (0%)	0 (0%) (0%)	0
TOTAL	154 (55.6%) (100%)	24 (8.66%) (100%)	99 (35.74%) (100%)	178 (100%)

Tabla 1. Distribución de los productos vivos y muertos obtenidos, así como de las reabsorciones presentes en los úteros de las ratas madre, la primera cifra corresponde al número de productos viables, la segunda, al porcentaje del total de los productos de un mismo grupo, la tercera cifra es el porcentaje en base a la característica "feto vivo, muerto", las reabsorciones no se procesaron debido a que no pueden ser estudiadas microscópicamente, por no existir morfogénesis.

A. RESULTADOS MACROSCÓPICOS.

Macroscópicamente, los productos presentaron patrones físicos variables aún entre los fetos de la misma camada (Fig. 8A). Dentro de las características observadas, esta el acortamiento del cuello y extremidades tanto superiores como inferiores (Fig. 8B), hipoplasia mandibular con protrusión de la lengua aparentando macroglosia, disminución de la talla (Fig. 8E), falta de desarrollo de la pared abdominal con la consecuente exposición de vísceras (Fig. 8B; flecha), falta de cierre del neuroporo anterior (Fig. 8C), así como la falta de diferenciación de gónadas.

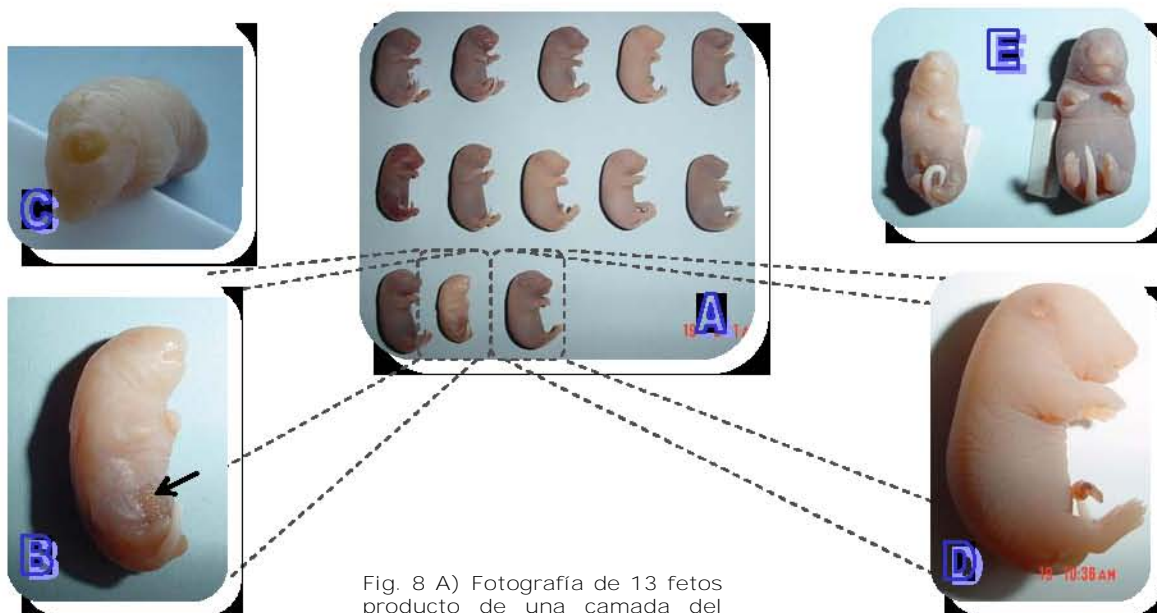


Fig. 8 A) Fotografía de 13 fetos producto de una camada del grupo 5% V.O. donde podemos ver las diferencias de talla y desarrollo entre el feto 12 y 13.

B) Acercamiento del feto 12 en donde se aprecia la exposición visceral (flecha) así como el acortamiento de miembros y falta de desarrollo dactilar C) una vista superior con presencia de la falta de cierre del neuroporo anterior. D) Feto 13, el cual da una apariencia "normal" en relación a talla, extremidades y grado de desarrollo. E) Imagen anterior comparativa entre los fetos 12 y 13 Fuente directa

B. RESULTADOS MICROSCÓPICOS.

La descripción microscópica se realizó primero en el órgano del esmalte seguido de la papila dental y saco folicular (Tabla 2).

GRUPO CONTROL.

En este grupo, las características microscópicas se mantuvieron acordes con las descritas por Ten Cate¹² para dientes humanos en las etapas de formación y Dellmann^{64,65} para órganos dentales de roedores, debido a que etapas iniciales de morfodiferenciación guardan mucha semejanza (Tabla 3-6).

Órgano del esmalte. Se encontró el órgano dentario en etapa de campana. En el asa cervical, se encontraron de 2 a 3 mitosis por campo de 40X, con polarización de las células del epitelio interno, empalizamiento del mismo e inicio del proceso de diferenciación celular de los ameloblastos, el estrato intermedio estaba constituido por células fusiformes, compactación celular en el retículo estrellado y las células del epitelio externo fueron cuboidales organizadas en empalizada (Fig. 9A). También se observó la secreción de matriz extracelular hacia la unión amelo-dentinaria (Fig. 9B)

Papila dental. La capa odontoblástica estaba formada por células cilíndricas con núcleos polarizados, localizadas hacia el techo de la papila dental, las que se encontraban organizadas (Fig. 9B; flecha) y en etapa de producción de matriz extracelular. Por debajo se observó la papila dental formada por abundantes células mesenquimatosas, hiper celular, bien vascularizada, delimitada por el saco folicular que apenas se insinúa hacia la profundidad del germen dentario (Fig. 9A). Es importante resaltar que los gérmenes dentales de este grupo se encontraron en etapa de campana como se aprecia en la figura 9A.

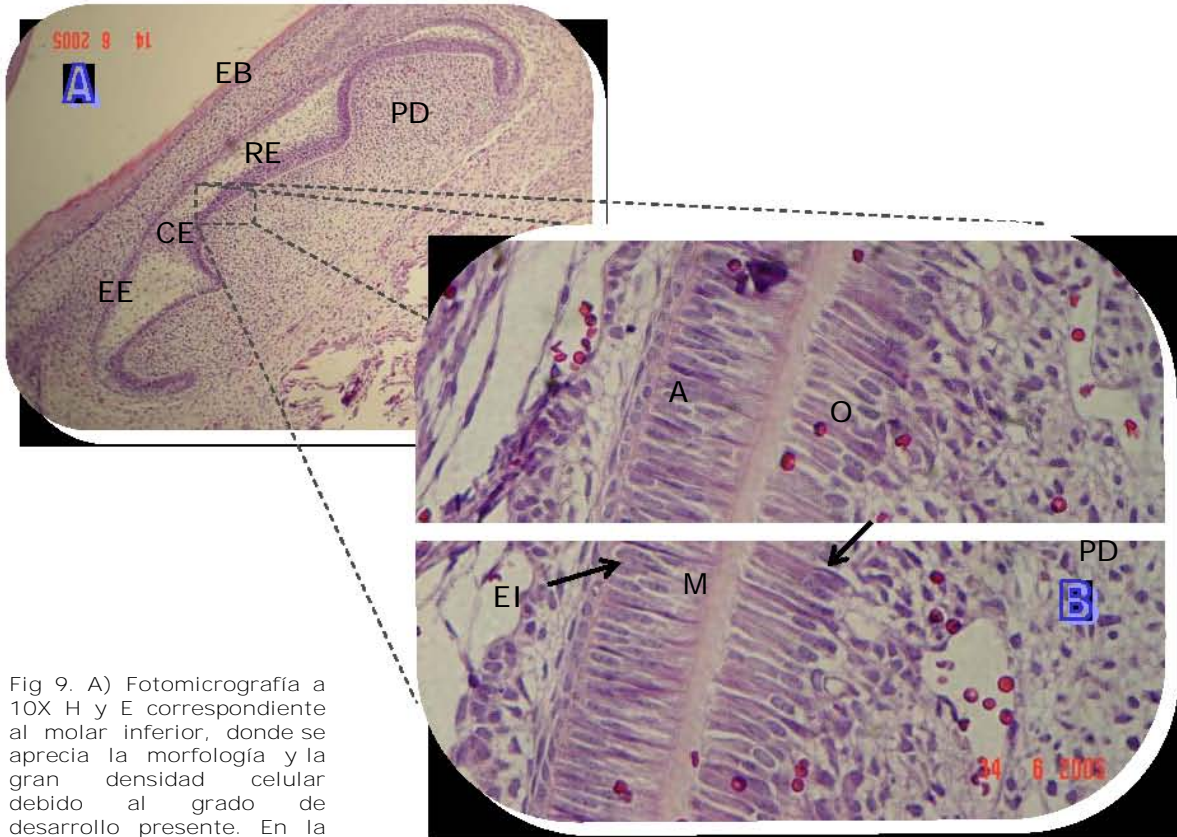


Fig 9. A) Fotomicrografía a 10X H y E correspondiente al molar inferior, donde se aprecia la morfología y la gran densidad celular debido al grado de desarrollo presente. En la imagen B a mayor aumento

(100X) se observa la zona de la futura unión amelo-dentinaría en donde los ameloblastos (A) y los odontoblastos (O) se encuentran diferenciados, sus núcleos están polarizados (flechas), asimismo la presencia de la matriz inicial (M). Fuente directa

Distribución Porcentual de la Presencia de Molares en Relación a Número Productos							
CONTROL	5% VO	5% VIP	10% VO	10% VIP	20% VO	20% VIP	TOTAL
N=15	N=18	N=10	N=3	N=2	N=5	N=0	N=53
n=15	n=14	n=6	n=2	n=0	n=4		n=41
100%	78%	60%	67%	0%	80%		77.36%

Tabla 2. Esta tabla indica el número de fetos procesados por grupo (N) y el número de molares examinados por grupo (n).

GRUPOS EXPERIMENTALES

GRUPO 5% V.O.

Órgano del esmalte. Las alteraciones microscópicas encontradas en este grupo a comparación con el grupo control fueron mínimas, se observaron 12 gérmenes (85.71%) en etapa de campana (Tabla 3), bien formados con distribución uniforme de los epitelios externo e interno, retículo estrellado homogéneo con aparente disminución en el número celular, regular vascularidad, unión amelo-dentinaria adelgazada y poco definida, (Fig. 10B) en relación al control con aparente acortamiento de la distancia germen-mucosa gingival. A mayor aumento se observó que la capa de ameloblastos tenía un ligero retraso en su desarrollo en comparación con el grupo control, estas manifestaciones son claras en la falta de organización de la empalizada de ameloblastos, con base a su mínima polarización nuclear (Fig. 10B). La presencia de mitosis en un promedio de 3 mitosis por campo de 40X principalmente en el área del asa cervical, sin secreción de matriz extracelular. Es importante hacer notar que varios gérmenes dentales se observó la presencia de formación avanzada de la vaina epitelial de Hertwig (Fig. 10 A).

Papila dental. Se encontró ésta limitada con mayor celularidad y buena organización del *Saco folicular* (Fig. 10A).

Dentro de este grupo experimental se observó un solo caso en el cual se presentó una aparente microdoncia (Fig. 10C y D), destacando solo como una alteración de tamaño y retraso en la diferenciación celular.

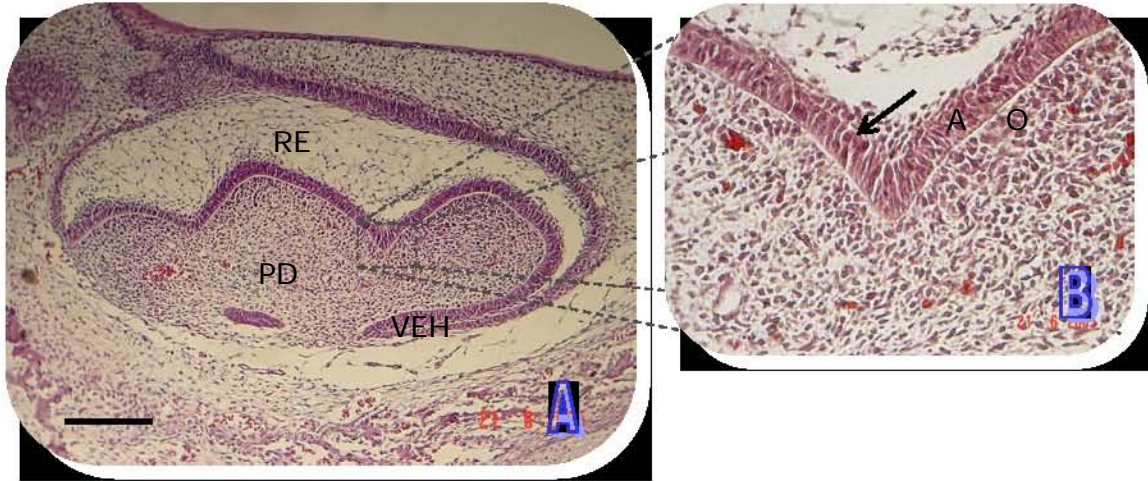
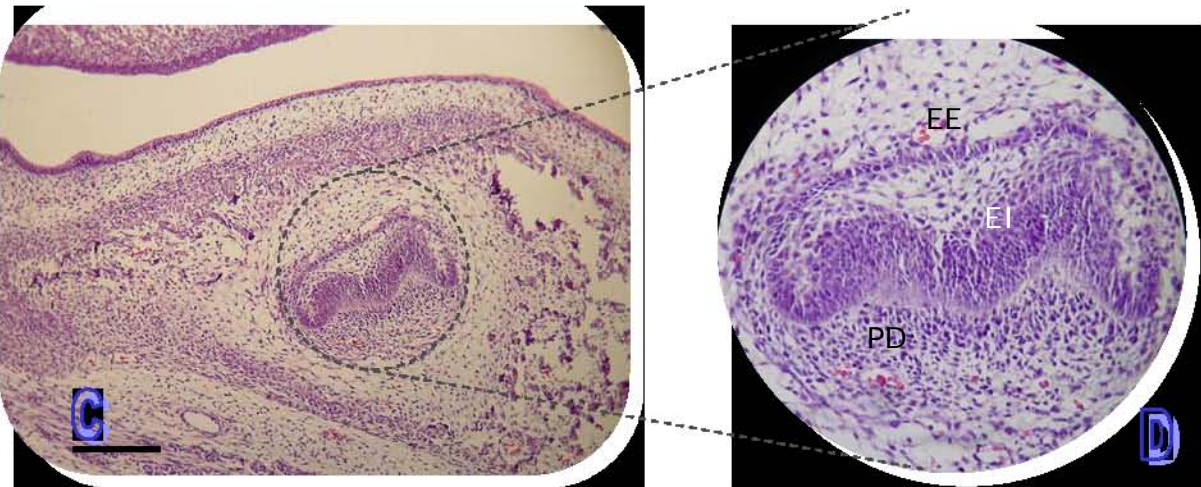


Fig 10 A) Fotomicrografía a 10X H y E correspondiente al molar inferior, donde se observa una morfología concordante a estadio de campana, con el inicio del desarrollo de la vaina epitelial de Hertwig (VEH). B) Aumento 40X con Tricrómica de Masson donde se aprecia el ligero grado de retraso en la diferenciación celular en las capas de A y O (flecha). C y D) La presencia de microdoncia es evidente en estas fotomicrografías a 10X y 40X, teñidas con H y E, en donde se puede ver el desarrollo del molar inferior con dimensiones menores, aumento en la densidad celular del EI y disminución en la zona de la PD. Fuente directa



Distribución de Germenes Dentales por Etapa del Desarrollo				
GRUPO	ETAPA			TOTAL
	BROTE	CASQUETE	CAMPANA	
CONTROL	0	0	15	15
5% VO	1	1	12	14
5% VIP	0	0	6	6
10% VO	0	0	2	2
10% VIP	0	0	0	0
20% VO	0	1	3	4
20% VIP				
TOTAL	1	2	38	41

Tabla 3. Esta tabla muestra que los gérmenes dentales en etapa temprana (brote y casquete) solamente se observaron en fetos tratados con las soluciones administradas por vía oral.

GRUPO 5% I.P.

El patrón microscópico en este grupo se presentó de manera parecida al del grupo experimental de 5% V.O.

Órgano del esmalte. Se encontraron gérmenes dentarios en etapa de campana con epitelio externo de grosor heterogéneo, retículo estrellado pobre en densidad celular, los ameloblastos estaban poco diferenciados, no polarizados, sin formación de matriz extracelular, presencia de 4 ó más mitosis por campo de 40X, (Fig. 10B), aumento del espacio de la unión amelo-dentinaria sin aparente secreción de matriz extracelular. Asimismo, se observó la presencia de vaina epitelial de Hertwig, a pesar de no haber presencia de matriz extracelular (Fig.12 A).

Papila dentaria. El sitio que correspondió a la capa odontoblástica no se encontró bien organizada, las células fueron polimorfas y no estuvieron diferenciadas, dentro de la papila hubo mayor densidad celular. La papila dental aparentemente estaba normal, con aumento aparente de la vascularidad. (Fig. 11B). El *Saco folicular* se encontró mejor organizado (Fig. 11A), en comparación con el anterior grupo experimental.

En el 50% de los casos (n=3) se observaron molares en etapa de campana (Tabla 3), con buena vascularidad de la papila y organización del órgano de esmalte, poca población celular en el retículo estrellado, y presencia de la vaina epitelial de Hertwig. La lámina vestibular, así como la capa ameloblástica se observaron menos diferenciados (menor polarización nuclear, ausencia de vacuolización citoplásmica y empalizamiento escaso), la papila dental presentó menor densidad celular (Fig. 12).

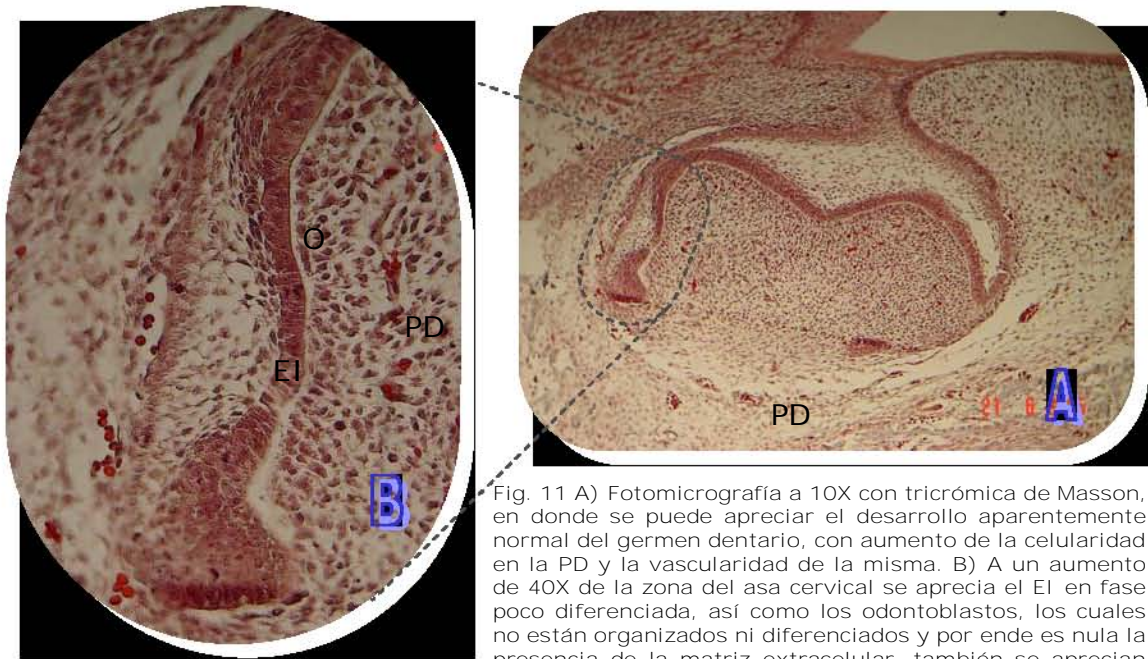


Fig. 11 A) Fotomicrografía a 10X con tricrómica de Masson, en donde se puede apreciar el desarrollo aparentemente normal del germe dentario, con aumento de la celularidad en la PD y la vascularidad de la misma. B) A un aumento de 40X de la zona del asa cervical se aprecia el EI en fase poco diferenciada, así como los odontoblastos, los cuales no están organizados ni diferenciados y por ende es nula la presencia de la matriz extracelular, también se aprecian más de 4 mitosis por campo de 40X. Fuente directa

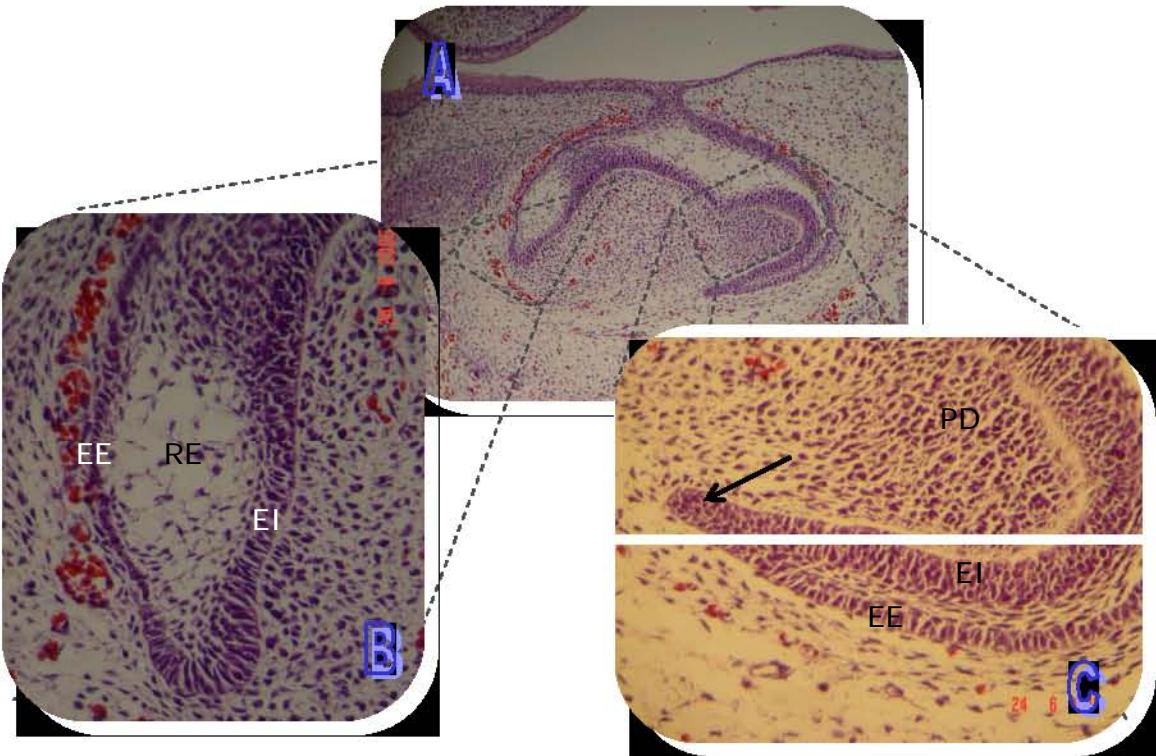


Fig. 12 A) Se observa un molar inferior a 10X H y E en etapa de campana tardía con buena vascularidad en la papila y el órgano de esmalte, poca celularidad en el retículo estrellado. C y D) Zonas del asa cervical donde se puede apreciar las diferencias de desarrollo en base a efectos de corte, en C) se puede visualizar el inicio de la diferenciación de la VEH (flecha), así como la capa ameloblástica poco diferenciada y poca densidad en la PD. Fuente directa

GRUPO 10% V.O.

De los fetos viables encontrados, las características microscópicas fueron acordes con el estadio de campana, en donde se presentó el molar inferior en esta etapa cuyo epitelio externo poseía células que en ocasiones fueron columnares, otras veces se observaron cuboidales y en otras ocasiones fueron poligonales. Asimismo, se pudieron observar ensanchamientos de la capa del epitelio externo dando aspecto de nódulos. El retículo estrellado mostró celularidad pobre. Los ameloblastos estaban poco diferenciados, los odontoblastos no lo estaban, con ausencia de matriz, buena vascularidad, presencia de 2 mitosis por campo de 40X y presencia de ligera variación en la morfología del órgano del esmalte en general, además de presencia de formación ósea para su inclusión del germen en el hueso (Fig.13).

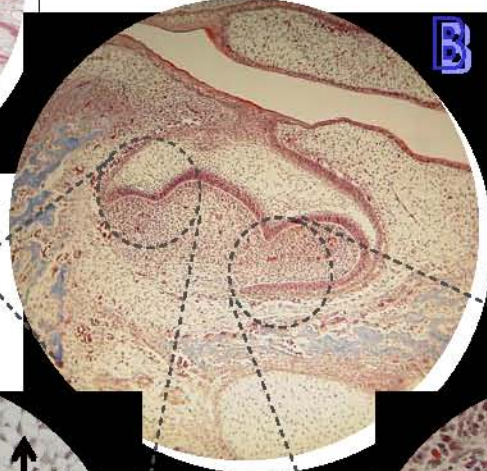
A



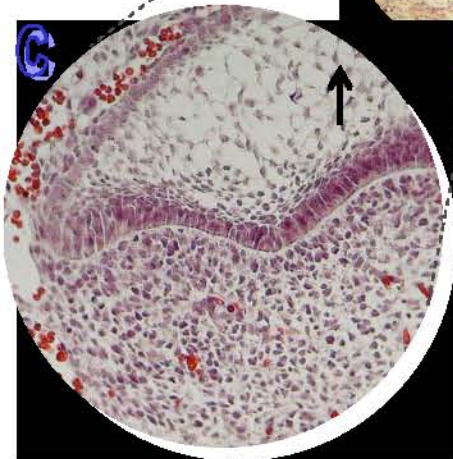
Fig. 13 Serie de fotomicrografías con magnificaciones de 5, 10, y 40X respectivamente, con Tricrómica de Masson en donde en A) podemos ver la presencia de tres gérmenes dentales, de ellos, el molar inferior en B) nos presenta una morfología normal con desarrollo en etapa de campana tardía y presencia de la VEH, la cual en C y D) muestran grado inicial de organización y diferenciación celular sin

producción de matriz, así mismo el RE se visualiza con ligera reducción en la concentración celular lo cual conlleva a espacios extracelulares mayores y buena vascularidad en la PD. Fuente directa

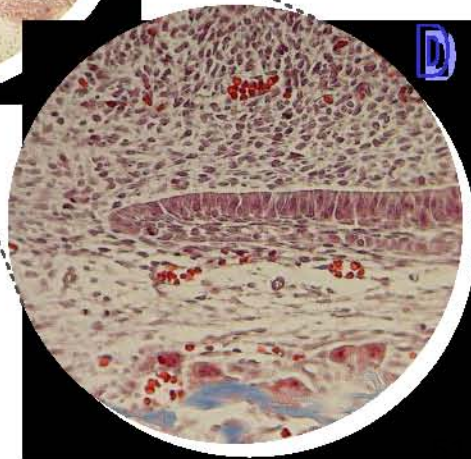
B



C



D



GRUPO 10% I.P.

En este grupo, los efectos de inhibición fueron severos, obteniendo solo 3 fetos vivos (6.83%) y 8 muertos (18.18%). Se observó que ninguno de ellos presentó la formación del germen dentario, por lo que se establece como un grupo con ausencia total del proceso de odontogénesis (Fig. 14A)

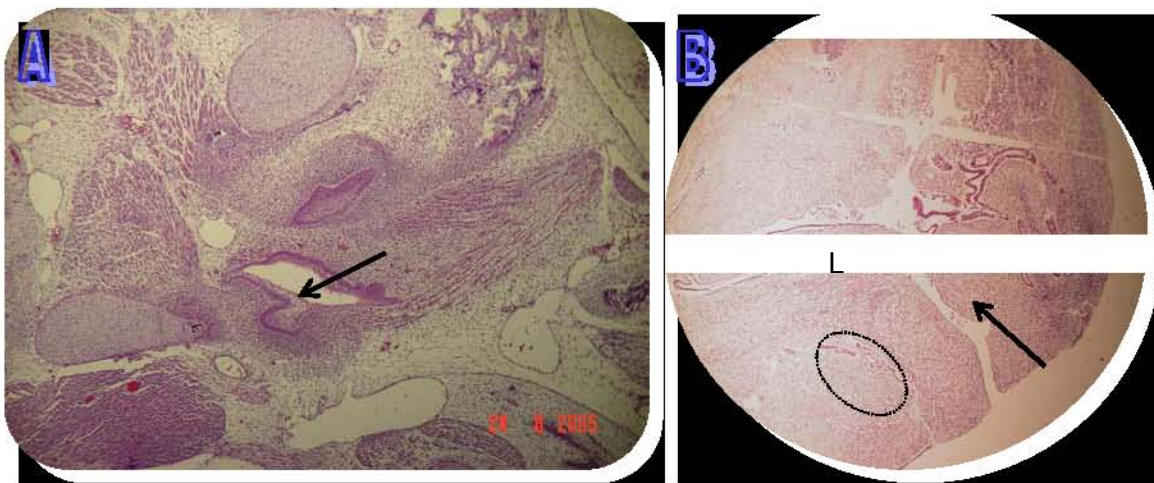


Fig. 14 A) Fotomicrografía de un feto vivo 10X H y E de la zona de la cavidad bucal, la presencia de estructuras es visible, aunque con moderado grado de hipoplasia general, poca vascularidad y anodoncia de los gérmenes dentales. Asimismo, la cavidad bucal solo se presenta como un esbozo (flecha). B) Imagen a 5X H y E en la zona bucal de un feto muerto amorfo, nótese el grado severo de desorganización, así como falta de desarrollo y diferenciación celular junto con necrosis en la totalidad de los tejidos, solo se puede observar una fisura en la zona correspondiente a la cavidad bucal (flecha), no expresando formación alguna del desarrollo dental (anodoncia). Fuente directa

Asimismo, la totalidad de los tejidos presentaron hipoplasia y desorganización estructural lo que hace establecer que la vía intraperitoneal es considerablemente más agresiva para los tejidos que la vía oral, a la concentración de mezcla del 10% como era de esperarse (Tabla 4 y 5).

GRUPO 20% V.O.

Éste se consideró como un grupo muy peculiar, ello debido a que solo se obtuvieron 5 especímenes vivos (71.43% de la totalidad de gestaciones) y 2 reabsorciones (28.57%), en los cuales se expresaron diferencias significativas entre los fetos del mismo grupo, obteniendo un feto con formación dental en estadio de campana temprana.

El órgano del esmalte, presentó de 3 a 5 mitosis por campo de 40X en el área cervical, el epitelio externo con células cuboidales, la densidad celular se encontró disminuida en el retículo estrellado, los ameloblastos estaban agrupados en empalizada, núcleos polarizados parcialmente, y una mediana vascularidad (Figs. 15A, B). Otro espécimen mostró el molar en etapa de casquete con retraso en la diferenciación celular tanto del epitelio externo como interno. La *papila dental* con escasa diferenciación celular, debido a que las células presentaron una imagen de células mesenquimatosas indiferenciadas que no guardan una relación núcleo-citoplasma de 2:1, núcleo hipercromático, polimorfismo celular, disminución en la condensación del ectomesénquima y escasas figuras mitóticas por campo de 40X (Figs. 15C y D), sin secreción de matriz extracelular. Un tercer espécimen mostró falta de desarrollo fetal generalizado, mostrando disminución de volumen y desarrollo de la totalidad de los tejidos, con ausencia del proceso de odontogénesis (Fig. 15 E). También se encontró un caso con germen dental en etapa temprana de casquete (Fig. 16), con retraso en la diferenciación celular del epitelio interno, papila dental y saco folicular. Por último el quinto espécimen mostró un molar amorfo con desarrollo del órgano del esmalte, la presencia de pleomorfismo en el epitelio externo y disminución de la celularidad en el retículo estrellado.

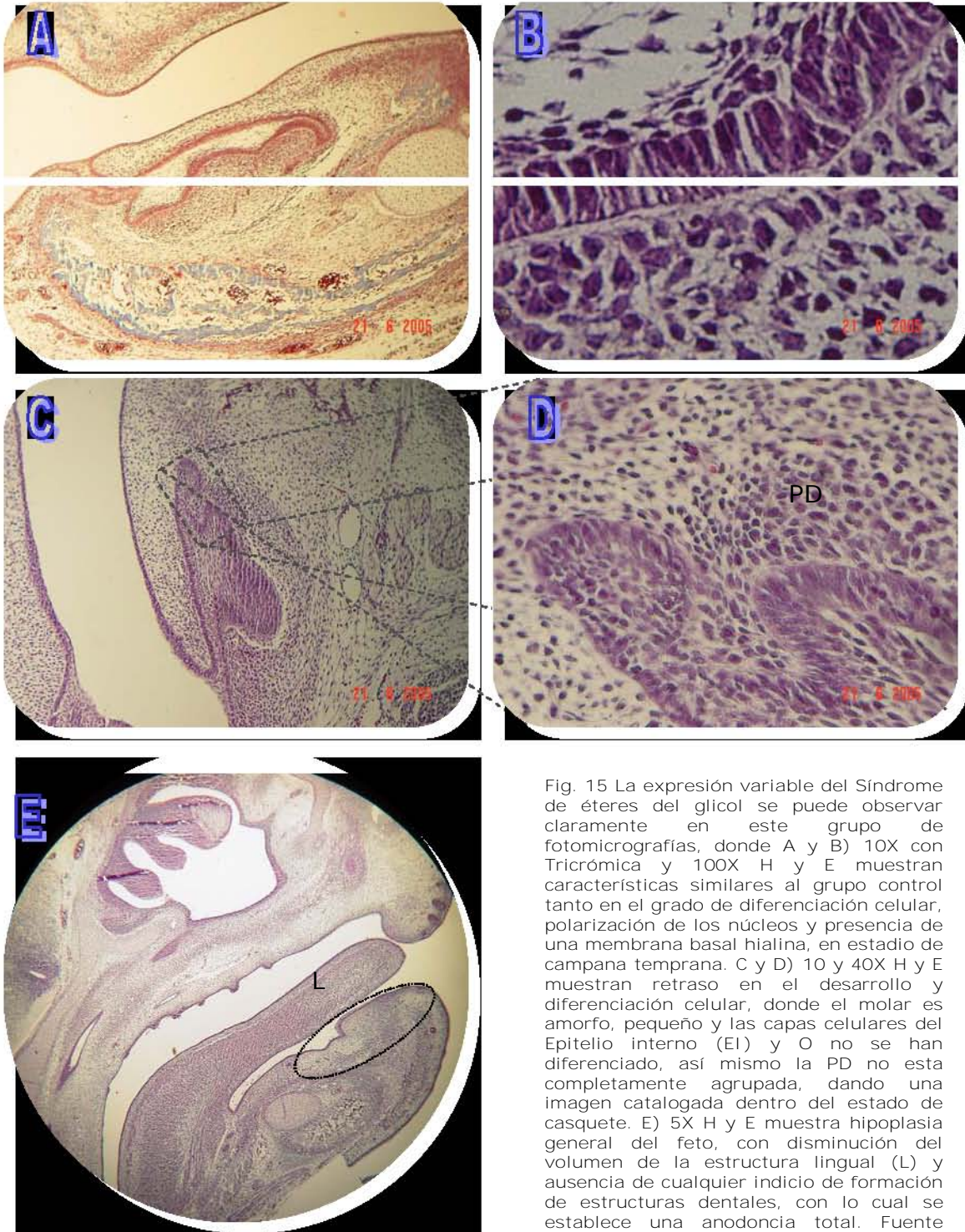


Fig. 15 La expresión variable del Síndrome de éteres del glicol se puede observar claramente en este grupo de fotomicrografías, donde A y B) 10X con Tricrómica y 100X H y E muestran características similares al grupo control tanto en el grado de diferenciación celular, polarización de los núcleos y presencia de una membrana basal hialina, en estadio de campana temprana. C y D) 10 y 40X H y E muestran retraso en el desarrollo y diferenciación celular, donde el molar es amorfo, pequeño y las capas celulares del Epitelio interno (EI) y O no se han diferenciado, así mismo la PD no esta completamente agrupada, dando una imagen catalogada dentro del estado de casquete. E) 5X H y E muestra hipoplasia general del feto, con disminución del volumen de la estructura lingual (L) y ausencia de cualquier indicio de formación de estructuras dentales, con lo cual se establece una anodoncia total. Fuente directa

Fig. 16 A) 10X H y E, el molar presenta una morfología correcta para el estadio de campana inicial, con densidad celular normales a excepción del RE. B) Magnificación a 40X de la zona del órgano del esmalte, donde se observa la ligera desorganización e indiferenciación del EI, con moderada disminución en la densidad del RE, la cual se encuentra localizada en la zona central. C) Imagen donde se aprecia un espacio correspondiente a la zona amelo dentinaria, este espacio fue causado por efecto de corte, ya que en su interior no hay presencia de material propio de la matriz extracelular, así como el grado de indiferenciación de la capa odontoblástica. Fuente directa

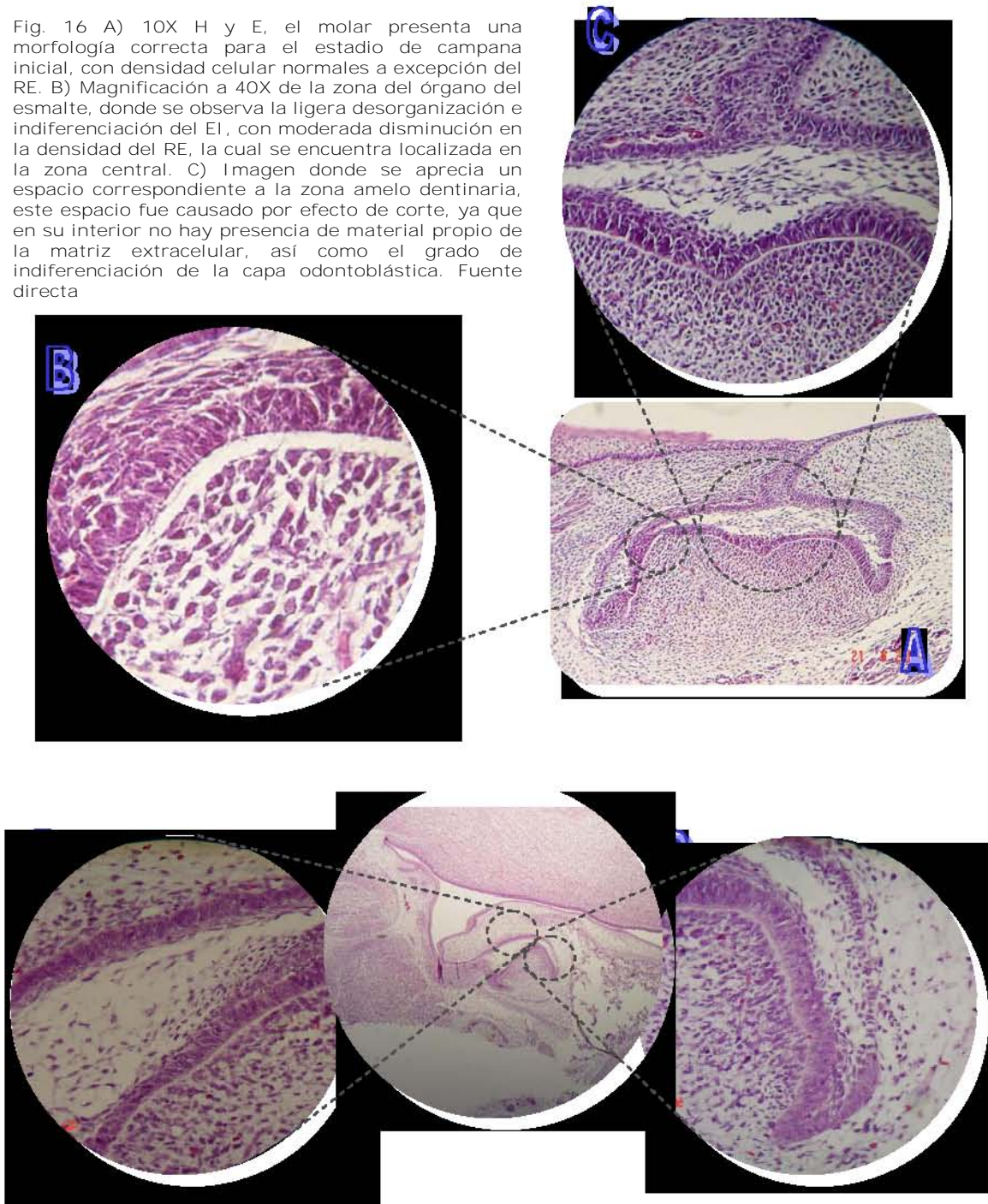


Fig. 17. Imagen de 10X H y E donde la característica principal es la morfología inusual del molar en etapa de campana temprana, presentando disminución de la expresión de las cúspides semejando el desarrollo de un diente monocuspideo. B y C) 40X corresponden a zona del RE y asa cervical, en ambas se puede apreciar la regular diferenciación celular del EE, EI y PD, con poca vascularidad. Fuente directa

GRUPO 20% I.P.

A pesar de que este grupo experimental se repitió en tres ocasiones, no se obtuvieron úteros que presentaran fetos vivos, muertos o reabsorciones (Tablas 1, 2, 4 y 5).

Agnesia Dental a Diferentes Concentraciones EC y MC.							
	SI	NO	TOTAL		SI	NO	TOTAL
5% VO	4	14	18	5% VIP	4	0	10
CONTROL	0	15	15	CONTROL	0	15	15
TOTAL	4	29	33	TOTAL	4	21	25
	SI	NO	TOTAL		SI	NO	TOTAL
10% VO	1	2	3	10% VIP	2	0	2
CONTROL	0	15	15	CONTROL	0	15	15
TOTAL	1	17	18	TOTAL	2	15	17
	SI	NO	TOTAL		SI	NO	TOTAL
20% VO	1	4	5	20% VIP			
CONTROL	0	15	15	CONTROL	0	15	15
TOTAL	1	19	20	TOTAL			

Tabla 4. Esta tabla muestra las diferentes tasas con que se observó la agnesia dental en los diferentes grupos examinados.

Retardo en la Odontogénesis a Diferentes Concentraciones de EC / MC							
	SI	NO	TOTAL		SI	NO	TOTAL
5% VO	2	12	14	5% VIP	0	0	0
CONTROL	0	15	15	CONTROL	0	15	15
TOTAL	2	27	29	TOTAL	0	21	21
	SI	NO	TOTAL		SI	NO	TOTAL
10% VO	0	2	2	10% VIP	0	0	0
CONTROL	0	15	15	CONTROL	0	15	15
TOTAL	0	17	17	TOTAL	0	15	15
	SI	NO	TOTAL		SI	NO	TOTAL
20% VO	1	3	4	20% VIP			
CONTROL	0	15	15	CONTROL	0	15	15
TOTAL	1	18	19	TOTAL			

Tabla 5. Esta tabla muestra las diferentes tasas con que se observó el retardo en el desarrollo en los diferentes grupos examinados.

Las mediciones aproximadas del área del germen dental son expresados en la Tabla 6, teniendo en el grupo control y en el grupo al 5% de la mezcla por VO a 5 y 14 especímenes respectivamente, los resultados de la t de students demostraron que no existe diferencia significativa entre las dimensiones de los gérmenes dentales de ambos grupos ($t < 0.05$).

Áreas de Germenes Dentales *mm ²							
	n=15	n=14	n=6	n=2	n=0	n=4	N=0
	CONTROL	5% VO	5% VIP	10% VO	10% VIP	20% VO	20% VIP
1	1.28	0.98	0.9	0.95	-	0.11	-
2	0.8	0.77	0.75	0.8	-	0.97	-
3	0.78	0.25	0.81	-	-	0.65	-
4	0.9	0.38	0.88	-	-	0.36	-
5	0.7	0.65	0.62	-	-	-	-
6	0.65	0.84	0.65	-	-	-	-
7	0.9	0.9	-	-	-	-	-
8	0.45	0.77	-	-	-	-	-
9	0.22	0.6	-	-	-	-	-
10	0.9	0.67	-	-	-	-	-
11	0.95	0.85	-	-	-	-	-
12	0.83	0.78	-	-	-	-	-
13	0.8	1.1	-	-	-	-	-
14	0.75	1.05	-	-	-	-	-
15	0.7	-	-	-	-	-	-
PROMEDIO	0.774	0.75	0.76	0.875	-	0.522	-

Tabla 6. En esta tabla se muestran las áreas aproximadas en mm² que ocuparon los gérmenes dentales analizados.

VI. DISCUSIÓN

Hoy en día aún existen muchas interrogantes en el Síndrome de éteres del Glicol, cuando este fue detectado en la población de Matamoros, Tamaulipas; La Dra. Saavedra se dio a la tarea de encasillarlo dentro de los síndromes conocidos, platicó con el Dr. Robert Gorlin, el cual manifestó su asombro, a lo que él respondiéndole que se trataba de un nuevo Síndrome aún no descrito (comunicación directa). A partir de este momento se suscitaron una serie de estudios siempre encaminados a aclarar aquellas manifestaciones clínicas presentes, principalmente enfocadas a explicar el retraso mental que la gran mayoría de estos pacientes presentaban, por lo que se sugirió tomar como modelo experimental a las ratas y sus fetos^{1,2,8,28}. Este tipo de experimentos se han llevado a cabo en diferentes países con resultados bastante parecidos sobre todo un grupo de franceses (comunicación directa con Dra. Saavedra). Los resultados encontrados a nivel sistémico con la aplicación de éteres del glicol son principalmente retraso en el proceso de la diferenciación celular e incremento en la vascularidad³⁵, como lo es en el SNC, hígado y riñón principalmente^{1,2,8,66}, asimismo en glándulas salivales en donde se observó agenesia de la glándula submaxilar en los grupos de 10% VIP y 20%VO⁶⁷. Estos estudios también fueron enfocados a la aparente macroglosia que se encontraba en los modelos experimentales así como en los seres humanos, encontrando que la macroglosia es falsa debido a que los solventes afectan el hueso¹². En lo que respecta al presente estudio la papila dental de los especímenes examinados presentó diferentes niveles de diferenciación. Asimismo, la falta de organización de la capa odontoblástica y el retraso en la diferenciación de la misma con falta de secreción de matriz orgánica están en relación con el menor grado de diferenciación que encontramos en estas células.

En el caso del epitelio interno del órgano del esmalte, también encontramos alteraciones importantes, probablemente debidas a una falla en la interacción epitelio-ectomesénquima. Ésto es importante, ya que el ectomesénquima juega un papel primordial en el proceso de diferenciación celular de esta estructura^{16,17} debido a que es un inductor en este proceso, por lo que se podría inferir que no hay una inducción como tal en aquellos grupos que tuvieron una exposición a los solventes de 10% y 20%, sin importar la vía de administración, siendo el grupo más afectado el de 20% por VIP. Esto mismo se puede decir para apoyar la presencia de alteraciones en el retículo estrellado y lo que se observa en el epitelio externo del órgano del esmalte. Estas alteraciones probablemente no están relacionadas a disminución en la vascularidad, ya que previamente está demostrado que el EG aumenta la cantidad de vasos sanguíneos y la permeabilidad de los mismos^{28,35}. Lo anterior refuerza la idea de que las alteraciones observadas en este estudio se deben a un efecto tóxico de las sustancias empleadas, que inhiben la interacción epitelio-ectomesénquima, provocando alteraciones que van desde mínimas hasta agenesia dental y son dependientes de la concentración de las mismas y la vía de administración.

De la misma manera, es importante hacer notar que en los especímenes examinados había desarrollo de la vaina epitelial de Hertwig, a pesar de que no existía presencia de matriz proteica. Esto puede deberse a que las sustancias empleadas en este experimento probablemente no tienen un efecto sobre el inicio de la diferenciación de las células de la vaina epitelial de Hertwig, pero su efecto posterior en el desarrollo de la misma no se conoce hasta el momento.

Es notorio que estos solventes orgánicos son embriotóxicos, ésto se puede observar en la tabla 1, la cual explica claramente el comportamiento que presentaron los diferentes grupos experimentales, por lo que a mayor

concentración mayor efecto teratogénico, pero existe una gran interrogante al respecto ya que en las camadas en las que solo se obtuvieron 3 ó 5 fetos vivos estos no presentaban alteraciones macroscópicas severas, el comportamiento de los solventes sobre los productos presentó una amplia variabilidad, desde vivos, muertos hasta reabsorciones; y a su vez entre los productos de una misma camada, lo que hace pensar que la capacidad de absorción de la placenta en cada uno de los fetos es diferente. Asimismo, las manifestaciones clínicas que son de lo más interesante en su aspecto físico, en el cual después de 5 experimentos repetidos en diferentes intervalos de tiempo presentan distintas características macro y microscópicas^{1,8,12,13,66,67}. La mayor severidad se observó en los casos con falta de cierre de neuroporo anterior y de pared abdominal, disminuyendo esta severidad en casos donde se vio el acortamiento de extremidades tanto superiores como inferiores con cierre de dicho neuroporo⁸.

En el caso de los pacientes revisados en Matamoros, Tamaulipas se encontraron casos con hipodoncia, principalmente de la dentición permanente¹; en los grupos experimental se encontraron casos de agenesia dental que varió entre el 100% y el 20% de la totalidad de productos de los diversos grupos.

La falta de desarrollo fetal en las madres con tratamiento de solución al 20% VIP, permite sugerir que los solventes EG y MC a esta concentración inhiben en su totalidad el desarrollo gestacional. Ésto se apoya en que si bien se revisó que hubo inseminación de las ratas madre, ya que existió la presencia de tapón vaginal, no hubo presencia de fetos o sus reabsorciones al sacrificio de las madres. En base a estos hallazgos, se pueden establecer dos posibles vías de inhibición por parte de los solventes orgánicos.

La primera probabilidad sugiere que es posible que exista fecundación y que no haya una adecuada implantación del cigoto en el útero o no se presente ésta, con la subsecuente eliminación del producto. La segunda probabilidad es que posterior a la implantación fetal, la acción de los solventes afecte el proceso de multiplicación celular, con la muerte de las mismas y con ello la eliminación del producto en etapas tempranas de la gestación.

VII. CONCLUSIONES.

- ✚ Los solventes etilén glicol y metil celosolve son embriotóxicos a concentraciones elevadas.
- ✚ Existió retraso en la diferenciación del epitelio interno del órgano del esmalte (ameloblastos).
- ✚ Incremento de la actividad mitótica en la capa ameloblástica (5 mitosis por campo de 40x) y aumento en el número de capas de ameloblastos en todos los grupos experimentales en comparación con el grupo control.
- ✚ Disminución de la celularidad en el retículo estrellado en relación al incremento de la concentración de la mezcla.
- ✚ Pérdida de la polaridad de los ameloblastos a mayor incremento de la concentración de la mezcla.
- ✚ Desorganización de la capa odontoblástica y retraso en la diferenciación celular en todos los grupos experimentales en comparación con el grupo control.
- ✚ Existe incremento de la vascularidad de la papila dental en los modelos con concentraciones del 5% y 10% administrados por VO.
- ✚ Falta de organización del saco folicular en los grupos experimentales de 10% y 20% VO.
- ✚ Incremento de reabsorciones en los grupos experimentales de 20%.
- ✚ A mayor concentración por vía oral menor formación del germen dental.
- ✚ A mayor concentración por vía intraperitoneal menor formación fetal.
- ✚ La administración de la mezcla de solventes al 20% es incompatible con la vida.

XII. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Saavedra OD, Arteaga SM, Serrano B. Contaminación industrial con solventes orgánicos como causa de teratogénesis. Salud Pública Méx 1996; 38:3-12
- 2) Saavedra OD, Arteaga SM, Tena SM. Industrial contamination with glycol ethers resulting in teratogenic damage. Preventive strategies for living in a chemical world. Ann NY Acad Sc 1997. 837:126-137.
- 3) Heaton D. An introduction of industrial chemistry, 2nd ed. Backie; Glasgow. 1991:22-41.
- 4) De Bussy JH. Materials and Technology. Petroleum and organic chemicals. Vol. IV. Chicago; Landgman. 1972:745-765.
- 5) Moreno L, Cano F. Epidemiología Clínica. Facultad de Medicina, UNAM; México. 1988:18-112.
- 6) Subdirección de investigación y desarrollo, laboratorio de salud ambiental. Contaminantes ambientales y efectos sobre la salud, solventes orgánicos.URL:<http://www.ins.gov.co/vigilancia/nivel2.php?seccion=23> accesado en octubre 2003
- 7) Vinay K, Ramzi SC, Stanley LR. Patología Humana. 7^a ed. Elsevier; Madrid. 2004.
- 8) Saavedra OD, Tena SM, Cornejo RL, Servín LL, Arteaga MM. Alteraciones craneofaciales y del sistema nervioso central producidas por solventes orgánicos. Estudio experimental en ratas. Rev Hosp. Gral Dr. M Gea González, 1998: 1(1): 8-15
- 9) Moore KL, Persaud TV. Embriología Clínica. 6^a ed. México; McGraw Hill – Interamericana. 1999.
- 10) Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores. Evaluación de la exposición ocupacional a solventes en trabajadores de una fábrica de calzado, Rev Cub Hig Epid 1999; 37:114-21.

- 11) Chronic toxicology. Summary. Ethylene glycol CAS registry Number: 107-21-1. http://www.oehha.org/air/chronic_rels/pdf/107211.pdf, accesado en septiembre del 2005
- 12) Velasco UV. Cambios citomorfológicos en los tejidos de la lengua en el síndrome de éteres de glicol. Tesis. Facultad Odontología UNAM, México, 2002.
- 13) Noya PT. Análisis morfométrico de estructuras faciales en fetos de ratas en el síndrome de éteres de glicol (síndrome de Saavedra) Tesis. Facultad Odontología, UNAM. México, 2003
- 14) Tyl RW, Fisher LC, Kubena MF, Vrbanic MA, Losco PE. Assessment of the developmental toxicity of ethylene glycol applied cutaneously to CD-1 mice. *Fundament Appl Toxicol* 1995; 27:155-166.
- 15) Kuleshova LL, MacFarlane DR, Trounson AO, Shaw JM. Sugars exert a major influence on the vitrification properties of ethylene glycol-based solution and have low toxicity to embryos and oocytes. *Cryobiology* 1999; 38:119-130.
- 16) Ten-Cate AR. *Oral histology*. 6th ed. St. Louis, Missouri, Mosby Co. 2004
- 17) Garant PR. *Oral cells and tissues*. Carol Stream. Quintessence. 2003.
- 18) Chai Y, Slavkin HC. Prospects for tooth regeneration in the 21st century: a perspective. *Microsc Res Tech* 2003; 60:469-479.
- 19) Mjör IA, Pindborg JJ. *Histology of the Human Tooth*. Copenhagen; Munksgaard. 1974.
- 20) Robinson C, Kirkham J, Shore R. *Dental Enamel, Formation to Destruction*. Boca Raton; CRC Press. 1995.
- 21) Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Biología molecular de la célula*. 4^a ed. Barcelona; Omega. 2004.
- 22) Gómez FM, Campos MA. *Histología y Embriología Bucodental*. Madrid, Medica Panamericana. 1999.
- 23) Multigner L, Catala M, Cordier S, Delaforge M, Fenaux P, Garnier R et al *Toxicol Lett* 2005; 156:29-37.

- 24) Bloomfield MM. Chemistry and the living organism. 5th ed. Wiley. 1992:517-21.
- 25) Staples CA, Boatman RJ, Cano ML. Ethylene glycol ethers: an environmental risk assessment. Chemosphere, 1998; 36: 1585-1613.
- 26) Hampel CA, Hawley GG. The Encyclopedia of Chemistry. 8th ed. Van Nostrand Reinhold. 1973.
- 27) Sax NI, Lewis RJ. Diccionario de Química y Productos Químicos. 7^a ed. México; Omega. 1993.
- 28) Center for the evaluation of risks to human reproduction. NTP-CERHR expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of ethylene glycol. Reprod Toxicol 2004; 18:457-532.
- 29) Wikipedia. http://en.wikipedia.org/wiki/Ethylene_glycol, accesado en sep. 2005
- 30) Baudot A, Odagescu V. Thermal properties of ethylene glycol aqueous solutions. Cryobiology 2004; 48:283-294.
- 31) Krishnaiah A, Reddy KV, Devarajulu T, Ramakrishna M. Isobaric vapour-liquid equilibria of methyl cellosolve aliphatic alcohol systems. Fluid Phase Equilibria 1999; 165:59-66.
- 32) Staples CA, Williams JB, Craig GR, Roberts KM. Fate, effects and potential environmental risks of ethylene glycol: a review. Chemosphere 2001; 43:377-83.
- 33) Agency for toxic substances and disease registry. ToxFAQs™ for Ethylene Glycol and Propylene Glycol, localizado en URL:http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts96.html, accesado en septiembre 2005
- 34) Yong NS, Moo LY. Pervaporation of ethylene glycol-water mixtures I. Pervaporation performance of surface cross linked chitosan membranes. J. Memb Sci 1999; 153:155-62.

- 35) Wusteman M, Busza A, Boylan S, Hayes A, Pegg D. Ethylene glycol permeation and toxicity in the rabbit common carotid artery. *Cryobiology* 1995; 32:428-35.
- 36) Price CJ, Kimmel CA. The developmental toxicity of ethylene glycol in rats and mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 81:113-27.
- 37) The physical and theoretical chemistry laboratory Oxford University, Chemical and other safety Information. http://physchem.ox.ac.uk/MSDS/ET/ethylene_glycol.html, accesado sep. 2005.
- 38) Lamb JC, Maronpot RR. Reproductive and developmental toxicity of ethylene glycol in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 81:100-12.
- 39) Eder FA, Grath CM. Ethylene glycol poisoning: toxicokinetic and analytical factors affecting laboratory diagnosis. *Clin Chem* 1998; 44:168-77.
- 40) Lakes environmental software, air toxics index. Ethylene glycol. Localizado en http://www.weblakes.com/toxic/ETHYLENE_GLYCOL.HTML, accesado sep. 2005.
- 41) Wahl A, Azaroual N. Poisoning with methanol and ethylene glycol: HNMR spectroscopy and effective clinical tool for diagnosis and quantification. *Toxicol Appl* 1998; 128:73-81.
- 42) Guo C, McMartin KE. The cytotoxicity of oxalate metabolite of ethylene glycol is due to calcium oxalate monohydrate formation. *Toxicology* 2005; 208:347-55.
- 43) Fraser AD, Coffin L, Worth D. Drug and chemical metabolites in clinical toxicology investigations: the importance of ethylene glycol, methanol and cannabinoid metabolite analyses. *Clin Biochem* 2002; 35:501-11.
- 44) Wahl A, Azaroual N, Imbenotte M, Mathieu D, Forzy G, Cartigny B et al. Poisoning with methanol and ethylene glycol: HNMR spectroscopy as an effective clinical tool for diagnosis and quantification. *Toxicology* 1998; 128:73-81.

- 45) Yu IJ, Lee JY, Chung YH, Kim KJ, Han JH, Cha GY et al. Co-administration of toluene and xylene antagonized the testicular toxicity but not the hematopoietic toxicity caused by ethylene glycol monoethyl ether in Sprague–Dawley rats. *Toxicology* 1999; 109:11-20.
- 46) Devillers J, Chezeau A, Poulsen V, Thybaud E. Effects of ethylen glycol ethers on the reproduction of *Ceriodaphnia dubia*. *Chemosphere* 2003; 50:373-76.
- 47) Barber JT, Thomas DA, Yatsu LY, Ensley HE. The physiological consequences of ethylene glycol-induced change in the frond structure of *Lemna gibba*. *Aquatic Toxicol* 1999; 45:253-64.
- 48) Thurman RG, Kaufmann FC. Ethel Browning's toxicity and metabolism of industrial solvents. Alcohols and esters. Vol. 3. 2nd ed. Amsterdam; Elsevier. 1992.
- 49) Jeong YI, Seo SJ, Park IK, Lee HC, Kang IC, Akaike T, et al. Cellular recognition of paclitaxel-loaded polymeric nanoparticles composed of poly(γ -benzyl L-glutamate) and poly (ethylene glycol) diblock copolymer endapped with galactose moiety. *Int J Pharmacol* 2005. (In press).
- 50) Windholz M. The Merck Index: An encyclopedia of chemicals and drugs. 9th ed. Rahway; Merck. 1976:499.
- 51) Davis BJ, Almekinder JL, Flagler N, Travlos G, Wilson R, Maronpot RR. Ovarian luteal cell toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and methoxy acetic acid *in vivo* and *in vitro*. *Tox Appl Pharmacol* 1997; 142:328-37.
- 52) Berndtson WE, Foote RH. Disruption of spermatogenesis in rabbits consuming ethylene glycol monomethyl ether. *Reprod Toxicol* 1997; 11:29-36
- 53) Tyl RW, Price CJ, Marr MC, Myers CB, Seely JC, Heindel JJ et al. Developmental toxicity evaluation of ethylene glycol by gavage in New Zealand white rabbits. *Fundament Appl Toxicol* 1993; 20:402-12.
- 54) Chapin RE, Morrissey RE, Gulati DK, Hope E, Barnes LH, Russell SA et al. Are mouse strains differentially susceptible to the reproductive toxicity of

ethylene glycol monomethyl ether? A study of tree strains. *Fundament Appl Toxicol* 1993; 21:8-14.

55) Venier M, Adami G, Larese F, Maina G, Renzi N. Percutaneous absorption of 5 glycol ethers through human skin in vitro. *Toxicol in Vitro* 2004; 18:665-71.

56) Hooth MJ, Herbert RA, Haseman JK, Orzech DP, Johnson JD, Bucher JR. Toxicology and carcinogenesis studies of propylene glycol in rats and mice. *Toxicology* 2004; 204:123-40.

57) Spencer PJ. New toxicity data of the propylene glycol ether— a commitment to public health and safety. *Toxicol Lett* 2005; 156:181-88.

58) Ash M, Ash I. *Handbook of food additives*. Gower. 1995.

59) Horton VL, Sleet RB. Developmental phase-specific and dose-related teratogenic effects of ethylene glycol monomethyl ether in CD-1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 80:108-118.

60) Kawamoto T, Matsuno K. Effect of ethylene glycol monomethyl ether and diethylene glycol monomethyl ether on hepatic metabolizing enzymes. *Toxicology* 1990; 62:265-274.

61) Aasmoe L, Winberg J, Aarbakke J. The role of liver alcohol dehydrogenase isoenzymes in the oxidation of glycoethers in male and female rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 150:86-90.

62) Sleet RB, Greene JA. The relationship of embryotoxicity to disposition of 2-methoxyethanol in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 93:195-207.

63) Banks WJ. *Histología Veterinaria Aplicada*. México; Manual Moderno. 1986:460-466.

64) Dellman HD, Carithers JR. *The National Veterinary Medical Series, Cytology and Microscopic Anatomy*. Providence Road; Williams & Wilkins. 1995:221-2.

65) Dellman HD. *Textbook of Veterinary Histology*. 4th ed. Philadelphia; Lea & Febiger. 1993:158-161.

- 66) Martínez HL. Efectos de los solventes orgánicos en el cartílago, hueso, músculo esquelético, hígado y riñón en un modelo experimental. Tesis. Facultad Odontología, UNAM; México. 2001.
- 67) Vázquez RL. Efectos de los solventes orgánicos etilén glicol y metil celosolve en las glándulas salivales de un modelo experimental (síndrome de Saavedra). Tesis. Facultad Odontología, UNAM; México. 2003.