



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

Evaluación de Drosophila melanogaster como  
biomonitor en un ambiente laboral:  
“Las Prensas de Ciencias”.

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**B I Ó L O G O**

**P R E S E N T A:**  
**WYLLY RAMSÉS GARCÍA NIÑO**

**DIRECTORA DE TESIS:**  
**DRA. PATRICIA RAMOS MORALES**

**MÉXICO, D. F. 2008**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ ESTA INVESTIGACIÓN

Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental de la  
Facultad de Ciencias, UNAM.

El material biológico utilizado en este trabajo fue proporcionado por el  
Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias, UNAM.



## APOYOS

El presente trabajo fue financiado parcialmente por el Programa de Apoyo a  
Proyectos Institucionales para el Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME),  
proyecto *PAPIME EN206803*. DGAPA, UNAM.

*Our biggest glory is not based in never have failed,  
but in having lifted us every time that we fell.*

*Nuestra mayor gloria no se basa en jamás haber fracasado,  
sino en habernos levantado cada vez que caímos.*

## DEDICATORIA

*A mis amados padres:*

*Wilfrido García García*

*Guadalupe Niño Ojeda*

*A mis queridos hermanos:*

*Unsui Shuriken y*

*Agni Ra Sui*

*A:*

*Jenny R. Romero V.*



*A mis abuelitas y mi tío:*

*Natividad Niño Ojeda*

*Concepción García Márquez*

*Alberto García Niño*

## AGRADECIMIENTOS

*Gracias Dra. Patricia Ramos Morales por enseñarme que la investigación debe ser algo divertido; que la curiosidad nos debe conducir a nuevos planteamientos, a buscar respuestas y a experimentar; que el ser jefe de grupo lleva consigo muchas responsabilidades, pero que el trabajar como equipo puede facilitarnos las cosas; por compartir tantas situaciones alegres y de triunfo, como los congresos, las titulaciones de mis compañeros del laboratorio, las cenas de Navidad, los cumpleaños; por la libertad y confianza que puso en mi para hacer del laboratorio mi hogar; por el apoyo y comprensión que mostró hacia mis problemas y deficiencias; y por toda la paciencia que puso en la revisión de esta tesis.*

*Gracias M. en C. Adriana Muñoz Hernández por haber sembrado en mi las bases que hoy dan fruto en este trabajo; además, de toda la ayuda, atención, confianza, cariño y amistad que me ofreciste a lo largo de toda la carrera.. Por enseñarme que el trabajo constante y la dedicación son características de un buen investigador; por regalarme una parte de ti: el ejemplo; y por abrigarme en un momento clave de mi vida.*

*Gracias Biol. Blanca Hernández Bernal por el cariño, la amistad, las enseñanzas y experiencias compartidas.*

*Gracias Biol. Hugo Rivas Martínez por el apoyo, la ayuda, la amistad y las amenas charlas que compartiste.*

*Gracias M. en C. María de Jesús Islas Guzmán (Maju) por apoyarme y preocuparte por que fuese mejor cada día.*

*Gracias Biol. Omar Arellano Aguilar por el interés que mostraste hacia mi trabajo, por tu amistad y tu entusiasmo.*

*Gracias Biol. Linda Beatriz Muñoz por ser una excelente amiga, por tu honestidad, lealtad, cariño, comprensión, ayuda e interés que mostraste hacia mi trabajo y mis problemas.*

*Gracias a mis sinodales: Dra. Luz María del Razo, Dra. Regina Montero y M. en C. Bertha Molina por sus valiosos comentarios y sugerencias, que ayudaron y me permitieron mejorar este trabajo.*

*Gracias a la Lic. Mercedes Perelló Valls y a todos los trabajadores de “Las Prensas de Ciencias”, por las facilidades prestadas en la realización de este trabajo, por sus inquietudes y comentarios.*

*Gracias a mis queridos tíos: Benjamín García, Flora Madrigal, Susana García, Jesús Granados, Victoria García, Damaso García, Adrián García, Patricia Lara, José García, Guadalupe Valencia y Domitila León; por todo lo que me han brindado en apoyo, cariño, consejo, entusiasmo, reconocimiento y respeto; para alcanzar mis objetivos.*

*Gracias a todos mis demás familiares y amigos de la familia, que no por estar englobados en esta categoría son menos importantes o estoy menos agradecido; ya que de cada uno de ustedes he tenido la oportunidad de aprender algo.*

*Gracias a mis eternos amigos, quienes a pesar de la distancia me han brindado su apoyo y siempre he contado con su amistad: Irais Merino, Luis Francisco González, Sazitl Berenice Jardón*

*Gracias a mis compañeros de laboratorio por todos los increíbles y felices momentos que compartimos: Armando, Pepe, Victor, Lizeth, Julia, Nieves, Claudia, Alicia, Diana, Julieta, Gabriela, Yaneli, Ariadna, Kaborik, Leticia, Karla, Alejandra, Carmen, Tania, Rosalba, Pablo, Hugo, Dorian, Tulio, Omar y Axa*

*Gracias M. en C. Elizabeth Estrada Muñiz por interesarte en mi desempeño académico y en la elaboración de esta tesis, por tu alegría y amistad, y por ser la persona que me conducirá a alcanzar la siguiente meta.*

*Gracias a mis compañeros del Laboratorio de Citogenética e Inmunotoxicología por su amistad, confianza, interés y el apoyo que me han brindado en todo este tiempo: Dra. Libia, Gerson, Alejandra, Raymundo, Alfredo, Salvador y Lili.*

*Gracias al Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias por la donación del material biológico utilizado en este proyecto.*

*Gracias al PAPIME EN206803, por el apoyo económico para la realización del proyecto.*

**Gracias.**



# ÍNDICE

Resumen	2
<b>1. Antecedentes</b>	
1.1 Toxicología genética	4
1.2 Toxicología ocupacional	8
1.3 Procesos de impresión	14
1.4 Monitoreo del aire	17
1.5 Biomonitorio	18
1.6 <i>Drosophila melanogaster</i>	24
1.7 Metabolismo de xenobióticos	32
1.8 Prueba de Mutación y Recombinación Somática ( <i>SMART</i> )	36
<b>2. Justificación</b>	40
<b>3. Hipótesis</b>	41
<b>4. Objetivos</b>	42
<b>5. Materiales y Método</b>	
5.1 Trabajo de laboratorio	43
5.2 Trabajo de campo	44
5.3 Análisis de sobrevivencia	48
5.4 Análisis del efecto genotóxico	49
5.5 Análisis de la prueba <i>SMART</i> .	50
<b>6. Resultados</b>	
6.1 Índice de Sobrevivencia (IS)	52
6.2 Índice Sexual (ISx)	54
6.3 Prueba de Mutación y Recombinación Somática ( <i>SMART</i> )	56
6.4 Análisis de resultados por sitio de exposición	63
<b>7. Discusión</b>	68
<b>8. Conclusiones</b>	79
<b>9. Perspectivas</b>	80
<b>10. Referencias</b>	81

## RESUMEN

En ambientes ocupacionales es posible que sustancias potencialmente tóxicas puedan acumularse en un ambiente relativamente cerrado, por lo que los trabajadores se exponen a mezclas de sustancias durante sus turnos de trabajo. Particularmente, los trabajadores de las imprentas se encuentran continuamente expuestos a una amplia variedad de químicos usados en el proceso de impresión, muchos de los cuales son potencialmente dañinos para la salud humana y el ambiente.

Esta exposición ocupacional puede ser evaluada por datos representativos de biomonitoreo y/o por modelos matemáticos basados en las características fisicoquímicas de las sustancias. El biomonitoreo toma ventaja del conocimiento de que los compuestos químicos que ingresan al organismo pueden alterar procesos biológicos relacionados con esta exposición.

*Drosophila melanogaster*, es un organismo que ha sido ampliamente usado en el campo de la toxicología genética para identificar mutágenos y posibles carcinógenos y ha sido utilizado exitosamente en evaluaciones ambientales. En el presente trabajo se incorpora este modelo a una evaluación ambiental dentro del ambiente laboral "Las Prensas de Ciencias", para evaluar su respuesta y obtener información de su capacidad de detectar diferencias en un ambiente fluctuante en los niveles de contaminantes asociados con esta actividad.

En este lugar se cubren las necesidades a todos los niveles de edición y reproducción editorial de la Facultad de Ciencias. Para el presente trabajo se seleccionaron 11 sitios, asumiendo que existía un gradiente en la presencia de los compuestos utilizados para las impresiones, se consideró que la mayor concentración se encuentra en los lugares cercanos al área de reproducción y la menor en los lugares más alejados.

Larvas de tercer estadio *Canton-S* y de la craza *SMART* fueron colocadas en los sitios seleccionados: bodega, diseño, oficina, fotocopiado, recepción, almacén, revelado y cuatro sitios dentro del área de reproducción. Las larvas que se utilizaron como testigo se colocaron en el Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental, que se encuentra físicamente en edificios independientes y separados por una distancia de 100 m, aproximadamente, donde permanecieron hasta completar su desarrollo en adultos.

Los biomarcadores empleados fueron el Índice de Supervivencia (IS), Índice Sexual (ISx) y la frecuencia de manchas en las alas de *Drosophila melanogaster*. En cuanto al IS, se obtuvo un efecto diferencial en cada sitio de exposición respecto al testigo, como consecuencia de la exposición a los xenobióticos presentes en la mezcla de aire y en respuesta al estrés provocado o a su toxicidad. El ISx no fue afectado en cuanto a la proporción de hembras y machos recuperados ( $\approx 50\%$ ). Los sitios donde se identificó efecto genotóxico en moscas libres de balanceador fueron las áreas de diseño y reproducción. La frecuencia de manchas aunque no significativa, si se modificó en relación al testigo.

El IS y la frecuencia de manchas no mostraron estar significativamente correlacionados en ambos tipos de progenie de la craza *SMART*. Esto probablemente debido a las fluctuaciones de los xenobióticos dentro de este ambiente laboral.

Nuestros resultados sugieren que *Drosophila melanogaster* puede ser usada para comparar la calidad del aire en diferentes áreas, para monitorear alteraciones en los niveles de xenobióticos en ambientes laborales y para conducir a largo término estudios de monitoreo.

# 1. ANTECEDENTES.

## 1.1 Toxicología Genética

Toxicología es la ciencia multidisciplinaria relacionada con el estudio del potencial adverso en la salud de los organismos que pueden tener las sustancias, ya sea de origen natural o sintetizadas por el hombre. En este contexto, los efectos adversos son definidos como aquellos que reducen el funcionamiento normal o la sobrevivencia de los organismos (Ballantyne, 2005).

La toxicología genética es una rama de la toxicología que identifica y analiza la acción de agentes químicos y físicos que afectan el material hereditario de los organismos vivos (Margolin, 1985; Brusick, 1987; Klaassen, 2001; Young, 2002). El material hereditario evaluado en el laboratorio es usualmente DNA, aunque existen organismos que utilizan RNA como sus almacenes de información (Li y Heflich, 1991).

El campo de la toxicología genética comenzó su desarrollo antes de que las bases bioquímicas de la herencia fueran entendidas. Los primeros investigadores observaron que los agentes químicos y físicos podrían causar mutaciones heredables (Young, 2002). La capacidad de la radiación en producir cambios heredables fue inicialmente reportada por Muller (Muller, 1927). Auerbach y colaboradores (1947), fueron los primeros en reportar la habilidad de los compuestos químicos para causar mutaciones. Estas primeras observaciones de cambios inducidos en rasgos heredables formaron un centro de estudios que evolucionó en el campo de la genética toxicológica (Brusick, 1987; Young, 2002). Durante la evolución de esta disciplina científica se han desarrollado, más de 200 sistemas *in vivo* e *in vitro*, de los cuales solo unos pocos han sido validados a un grado significativo. Estos sistemas van desde

organismos unicelulares a complejos organismos multicelulares, e incluyen sistemas que identifican genotoxinas celulares somáticas y/o genotoxinas celulares germinales (Li y Heflich, 1991).

El daño al DNA puede ocurrir a través de procesos biológicos normales o como el resultado de la interacción del DNA, tanto directa o indirectamente, con agentes químicos, físicos o biológicos (Brusick, 1980). Esta interacción puede tener efectos adversos en la salud. Por ello, la toxicología genética estudia los efectos mutagénicos de sustancias químicas y de la radiación, así como las consecuencias para la salud de los seres humanos debido a la exposición a los mutágenos (Figura 1). Primero, porque un aumento en la tasa de mutaciones en las células germinales humanas puede incrementar la incidencia de trastornos genéticos en las generaciones futuras y segundo, porque las mutaciones en las células somáticas pueden contribuir a la aparición de trastornos tan graves como el cáncer, en los individuos expuestos (Vega y Reyes, 2006).

Algunos tóxicos dañan el complejo genético a concentraciones que producen citotoxicidad aguda no específica y muerte; el objetivo primario de la toxicología genética, sin embargo, es detectar y analizar el daño potencial de aquellos agentes que son altamente específicos para afectar la calidad, integridad y expresión de los ácidos nucleicos y producir alteraciones en los elementos genéticos a concentraciones subtóxicas. Los agentes que producen alteraciones en los ácidos nucleicos y componentes asociados a nivel subtóxico, resultando en características hereditarias modificadas o inactivación del DNA, son clasificados como genotóxicos. De hecho, la universalidad de la molécula blanco es la clave para la disciplina toxicología genética (Brusick, 1987).

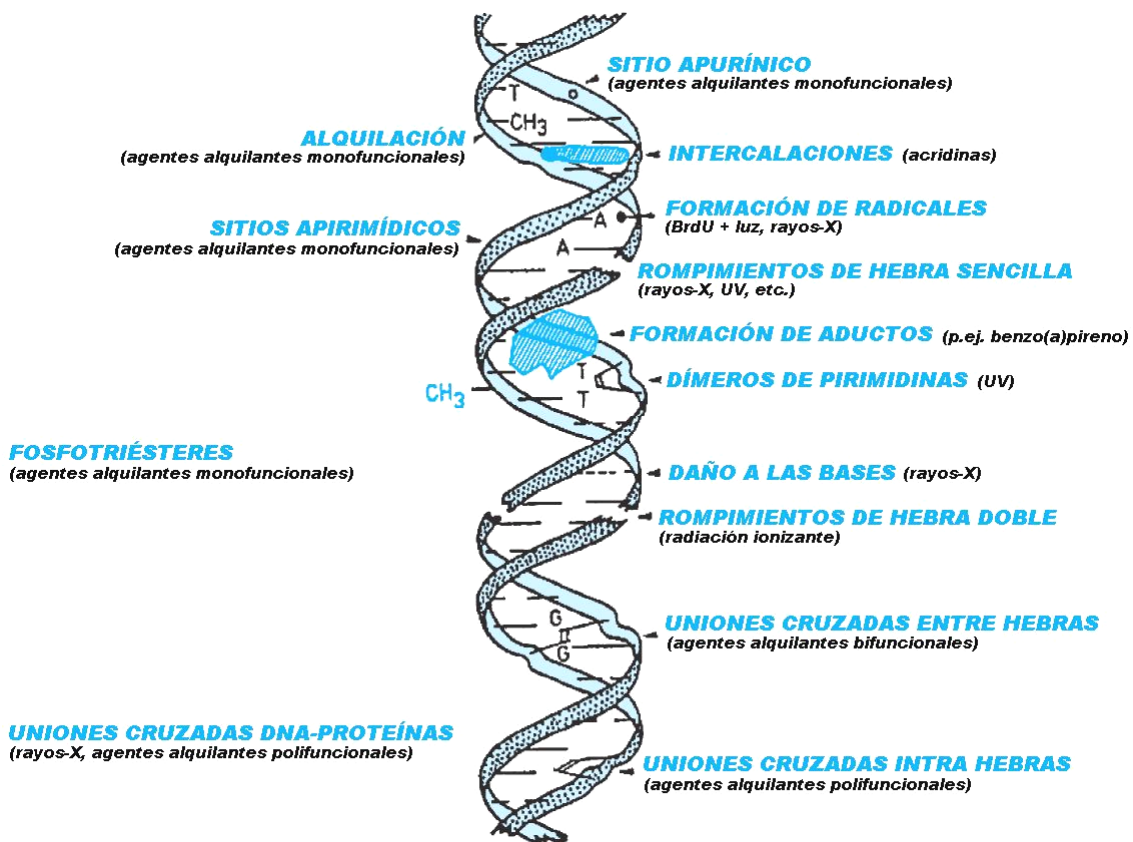


Figura 1. Espectro de daño al DNA inducido por agentes físicos y químicos (Klaassen, 2001).

La transferencia de tecnología y la aplicación de metodologías de ciencias básicas para la solución de problemas prácticos, han sido esenciales para el desarrollo de la toxicología genética. Muchos de los métodos empleados para detectar sustancias genotóxicas fueron inicialmente desarrolladas para otros propósitos (Brusick, 1987). Sin embargo, solo un número limitado de pruebas están suficientemente bien desarrolladas y usadas para proveer información sobre la habilidad de un químico a inducir mutaciones génicas y daño cromosómico (Tennant y Zeiger, 1993) (Tabla 1).

Para dar valor a la toma de decisiones y para reunir las rigurosas demandas de validez científica, los resultados de las pruebas de mutagenicidad deben ser reproducibles cualitativa y cuantitativamente. Los procedimientos de validación

usados aseguran que la prueba verdaderamente mide lo que fue diseñada a medir; evalúa la reproducibilidad intra e interlaboratorios y el desarrollo de protocolos estandarizados (Tennant y Zeiger, 1993).

**Tabla 1. Algunas de las pruebas utilizadas en toxicología genética.**

<b>Modelo</b>	<b>Prueba</b>	<b>Referencia</b>
▪ <i>Salmonella typhimurium</i>	Prueba de Ames	Ames <i>et al.</i> , 1973
▪ <i>Drosophila melanogaster</i>	Mutaciones letales recesivas ligadas al sexo y traslocaciones recíprocas	Vogel, 1987
▪ Ratón	Aberraciones cromosómicas	Iasnova <i>et al.</i> , 1970
	Intercambio de cromátidas hermanas en médula ósea	Erexson <i>et al.</i> , 1983
	Micronúcleos en médula ósea	Richardson <i>et al.</i> , 1983
	Micronúcleos en eritrocitos de sangre periférica	MacGregor <i>et al.</i> , 1990
▪ Rata	Micronúcleos en médula ósea	Albanese y Middleton, 1987
▪ Hámster Chino	Intercambio de cromátidas hermanas en cultivos de células ováricas	Perry y Evans, 1975
▪ Humano	Aberraciones cromosómicas en linfocitos	Norman y Sasaki, 1966
	Intercambio de cromátidas hermanas en cromosomas de linfocitos	Solomon y Bobrow, 1975
	Micronúcleos en linfocitos de sangre periférica	Gupta <i>et al.</i> , 1988 Montero <i>et al.</i> , 2006
	Micronúcleos en eritrocitos de sangre periférica	Smith <i>et al.</i> , 1990

La toxicología genética ha jugado una función dual en programas de evaluación de seguridad. Por un lado se aboca a la implementación de pruebas y métodos de evaluación de riesgo para definir el efecto de agentes genotóxicos en el ambiente y cuya presencia puede alterar la integridad de la poza genética humana y transmitir mutaciones inducidas a generaciones subsecuentes. La segunda función es la aplicación de metodologías genéticas para la detección y entendimiento del mecanismo de acción de compuestos químicos carcinogénicos (Brusick, 1987; Tennant y Zeiger, 1993).

## 1.2 Toxicología Ocupacional

La toxicología ocupacional es la aplicación de los principios y metodologías de la toxicología hacia peligros químicos y/o biológicos encontrados en ambientes laborales (Ballantyne, 2005; Dekant y Vamvakas, 2005). Su objetivo es prevenir los efectos adversos derivados de este tipo de exposición en la salud de los trabajadores. La toxicología ocupacional debe tener un íntimo conocimiento del ambiente laboral y poder reconocer y priorizar las exposiciones dañinas. Debido a que el ambiente laboral frecuentemente presenta exposiciones a mezclas complejas, la toxicología ocupacional debe reconocer las exposiciones combinadas que son particularmente peligrosas (Klaassen, 2001).

La exposición ocupacional es la condición de estar sujeto a través de la actividad laboral a un agente químico, físico, o biológico, o a un proceso, práctica, conducta, u organización de trabajo. La exposición a un agente químico es típicamente el contacto de ese agente con el límite externo de un sujeto, tal como el sistema respiratorio, piel o sistema digestivo (Harper, 2004). La exposición ocupacional a sustancias es mucho más probable que sea por el tracto respiratorio y por ingestión secundaria, donde el agente se encuentra en aerosol o es volátil, con dosis considerablemente más bajas que las utilizadas en estudios con animales, en condiciones de laboratorio. Como ruta de entrada, la exposición dérmica parece ser de particular importancia en trabajadores que usan disolventes (pintores, limpiadores de metales, impresores, tipógrafos, tintoreros) y en trabajadores involucrados en la aplicación de pesticidas (Herber *et al.*, 2001).

En las poblaciones expuestas de manera ocupacional se debe considerar que, en un ambiente relativamente cerrado, se pueden acumular las sustancias potencialmente tóxicas, por lo que los trabajadores, además de sufrir la contaminación ambiental general, pueden padecer la contaminación o acumulación de diferentes sustancias en la atmósfera que respiran durante sus



turnos de trabajo; esto podría determinar un posible efecto aditivo o un verdadero sinergismo entre ellos (Szyfter *et al.*, 2004; González y Zuñiga, 2006), como es el caso del humo de cigarro que tiene efectos sinérgicos (Ernst y Thériault, 1984).

La exposición de una población humana puede ser evaluada por datos representativos de monitoreos repetidos y/o por cálculos modelados basados en la información disponible de las sustancias con usos análogos y patrones de exposición o propiedades similares. La confiabilidad de los datos será determinada por la sensibilidad de las técnicas usadas y las estrategias y estándares de calidad utilizados para el muestreo, análisis y protocolos. Los datos de buena calidad son esenciales, así como la representatividad de las muestras obtenidas, las que además deben ser informativas de la intensidad de las exposiciones en los diferentes lugares. Esto requiere consideración del tipo de muestreo, el lugar, la duración y la frecuencia (Winder y Stacey, 2004). En el Reporte Técnico de la IUPAC (Internacional Union of Pure and Applied Chemistry) se ha reportado que más del 95% de los productos líquidos usados en la industria son mezclas y que para la evaluación de la exposición a éstas en el lugar de trabajo, el conocimiento de una sustancia particular, es necesaria, pero no suficiente (Bieniek *et al.*, 2004).

En una situación ideal, puede asumirse que la sustancia de interés está homogéneamente distribuida en el área de trabajo. En esta situación, si la concentración de la sustancia en el sitio es constante, una muestra será suficiente para obtener una imagen exacta para la evaluación de riesgo. En la práctica común la situación ideal nunca es alcanzada. La concentración de una sustancia puede fluctuar bajo la influencia de distintos parámetros: las sustancias, el volumen, la temperatura y la tasa de circulación (Herber *et al.*, 2001).

Debido a que en el lugar de trabajo las sustancias pueden variar significativamente en tiempo y espacio, se debe poner atención a la ruta de exposición cercana a los trabajadores. Para mediciones de las sustancias transportadas por el aire, estas deben ser realizadas tan cerca como sea posible de la zona de respiración. Sin embargo, pueden observarse diferencias en la exposición medida en diferentes puntos si la atmósfera es del todo heterogénea (Harper, 2004).

Los gases pueden causar la aparición de nuevas sustancias en el área de trabajo. Una vez que una sustancia aparece en el espacio laboral, se dispersa a través de éste y su distribución dependerá del estado físico de la misma y de las condiciones del lugar de trabajo. Debe señalarse, por ejemplo, que en una masa de aire las concentraciones en partes por millón (ppm) de un contaminante gaseoso son mínimas; ya que, el efecto dominante es el del aire (Herber *et al.*, 2001; Winder y Stacey, 2004). Si un líquido es rociado (pintura en spray), el rocío llenará el volumen disponible dependiendo de la cantidad de sustancia y la temperatura. La densidad del rocío también es dependiente de la cantidad. Algunos sólidos sublimarán, se vaporizarán directamente sin formar un líquido. La distribución de estas sustancias en el área de trabajo puede ser comparada con la distribución del vapor de líquidos volátiles. Otros sólidos pueden fundir a temperatura ambiente y deberían ser tratados como líquidos. Si un sólido consiste de partículas, puede formarse un aerosol (al soldar, cortar o aserrar). La densidad del aerosol será dependiente de la cantidad de sustancia y del proceso mecánico por el cual el aerosol es formado (Herber *et al.*, 2001).

Las máquinas de procesamiento mecánico como mezcladoras, barrenadoras, sierras, molidoras, pero especialmente raspadoras y cortadoras, producen partículas que pueden incluir una fracción importante de polvo que es respirable; cada proceso mecánico donde éste es formado, debe ser considerado que produce algún tipo de daño (Herber *et al.*, 2001). Las

partículas pueden penetrar y depositarse en diferentes partes de las vías aéreas humanas y pueden causar diferentes efectos a la salud dependiendo de la aerodinámica de la partícula en la vía aérea. Algunos ejemplos incluyen perforación nasal, irritación de las vías aéreas superiores y silicosis alveolar (Harper, 2004). Además, cuando se trata de procesos mecánicos e industriales que implican múltiples etapas en las que se involucran diversas sustancias, algunas veces no es completamente claro cuáles sustancias son formadas durante el proceso (Herber *et al.*, 2001).

Existen cerca de 120,000 compuestos químicos con un número de registro del Chemical Abstracts Service (CAS) que son usados en la industria (Tabla 2).

**Tabla 2. Sustancias químicas empleadas en procesos industriales.**

Sustancias	Volatilidad	Ejemplos
Líquidos polares con masa molecular baja	Volatilidad alta y son fácilmente distribuidos como vapor en el área de trabajo	metano, acetileno, hexano
Líquidos polares	Volatilidad baja a temperatura ambiente	agua, metanol, ácido fórmico, ácido acético
Ligeramente polares no solubles en grasas	Volatilidad alta	acetona, formaldehído, acetato de etilo, y éter
Compuestos químicos con cadenas alifáticas o aromáticas más largas	Volatilidad baja	decanol, ácido esteárico, caproaldehído, bezaldehído, y benzofenona
Otros compuestos	Volatilidad suficiente para ser detectados por sus olores	anisol, anilina, alcoholes, tetrahidrofurano y aromáticos.

La aparición de las enfermedades de origen laboral se relaciona con las sustancias tóxicas presentes en los sitios de trabajo. Por ello, la toxicología ocupacional y ambiental investiga los efectos nocivos producidos por las sustancias de uso ocupacional o industrial, y los límites seguros de exposición de los seres humanos hacia estas sustancias y su repercusión en el ambiente (Rappaport *et al.*, 1995; Ballantyne, 2005; Rodríguez y Jaramillo, 2006).

Los potenciales efectos genotóxicos sobre la salud humana por compuestos químicos en fase de vapor incluyen la formación de células malignas, la acumulación de genes anormales heredables dentro de la población, enfermedades del corazón, envejecimiento y cataratas (Grant, 1998). Las categorías de sustancias laborales comunes que podrían incrementar el riesgo carcinogénico incluyen: aminas aromáticas, nitrosaminas, hidrocarburos clorinados, aromáticos policíclicos, radionúclidos, polvos metálicos y hormonas esteroides (Eubanks, 1994).

**Tabla 3. Efectos de la exposición ocupacional a xenobióticos.**

Ocupación	Exposición	Efecto	Referencia
▪ Trabajadores de la industria del papel	Polvos orgánicos	Inflamación de las vías aéreas	Rylander <i>et al.</i> , 1999
▪ Aplicadores de pesticidas	Alaclor	Cáncer linfohematopoyético	Lee <i>et al.</i> , 2004
▪ Extracción y procesamiento de asbestos	Crisotil asbestos	Asbestosis	Likhacheva <i>et al.</i> , 1999
▪ Trabajadores de la industria textil del algodón	Polvo del algodón	Bronquitis crónica, tos y disnea	Wang <i>et al.</i> , 2003
▪ Constructores	Polvo de cuarzo	Silicosis	Linch, 2002
▪ Soldadores	Manganeso	Irritación y lagrimeo ocular, secreción de moco negro, dolor de cabeza	Korczynski, 2000
	Cromo y Níquel	Cáncer	Danadevi <i>et al.</i> , 2004
▪ Trabajadores de la industria del plástico	Cloruro de polivinilo	Cáncer testicular	Hansen, 1999
	Estireno	Cáncer	Pfäffli y Säämänen, 1993
▪ Producción de cromatos	Cromo hexavalente	Cáncer de pulmón	Gibb <i>et al.</i> , 2000
▪ Pintores	Disolventes orgánicos	Disfunción del SNC	Grasso <i>et al.</i> , 1984
▪ Procesos de refinación del petróleo	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs)	Cáncer de próstata	Rybicki <i>et al.</i> , 2006
▪ Fabricación del vidrio	Arsénico	Cáncer	Vuyyuri <i>et al.</i> , 2006
▪ Artesanos de cerámica vidriada con plomo	Plomo	Mutagénicos y Teratogénicos	Azcona-Cruz <i>et al.</i> , 2000

Se ha estimado que cerca del dos al ocho por ciento de todos los cánceres humanos son de origen ocupacional (Stellman y Stellman, 1996). El lugar de trabajo sirve como un punto focal en el cual un gran número de individuos pueden estar expuestos a altas concentraciones de compuestos químicos u otras situaciones peligrosas (Sawicki, 1977; Ernst y Thériault, 1984; Cohen y Pope, 1995; Jerrett *et al.*, 2005) (Tabla 3).

De acuerdo con Herber *et al.* (2001), entre los factores externos que incrementan el riesgo de exposición a tóxicos potenciales, pueden distinguirse los siguientes:

- aparatos de mala calidad y/o procesos diseñados y manejados deficientemente
- combinación insegura de aparatos y/o procesos
- funcionamiento incorrecto de aparatos y procesos
- mantenimiento inadecuado de equipos y aparatos
- uso excesivo de artefactos protectores guiando a una deficiente higiene ocupacional
- carencia de área separada para limpieza
- falta de área delimitada para comer y beber
- presión de trabajo y estrés excesivo
- indisciplina

Aunque, también los trabajadores pueden incrementar su propio riesgo, por las siguientes acciones:

- no cumplir con las reglas de seguridad y las prácticas de trabajo especificadas
- no vestir equipo de protección personal
- comer, beber y fumar en el lugar de trabajo
- no lavarse las manos
- ponerse las manos en la boca
- no cambiar su uniforme

### **1.3 Procesos de Impresión**

Existen cinco procesos generales de impresión que son: offset o litografía, flexografía, huecograbado, serigrafía, tipografía e impresión digital (Miller, 1997). Dependiendo del proceso, la imagen impresa es transferida al sustrato tanto directa como indirectamente. En la impresión directa la imagen es transferida desde el acarreador de imagen al sustrato, ejemplos de impresión directa son el huecograbado, flexografía, serigrafía y tipografía. En la indirecta, u offset, la imagen es primero transferida del acarreador de imagen a la mantilla cilíndrica, y de allí al sustrato (PNEAC, 1996). La litografía u offset, actualmente es la tecnología de impresión dominante y es un proceso indirecto (Shen, 1995).

Cada proceso de impresión puede ser dividido en tres pasos principales: pre-impresión, impresión y post-impresión. Las operaciones de pre-impresión abarcan la serie de pasos durante los cuales la idea para una imagen impresa, como una foto o dibujo, es transformada a un acarreador de imagen tal como una placa, cilindro o tamiz. También incluyen la composición y tipografía, ensamble de imagen, separación del color, y preparación del acarreador de imagen. Por otra parte, las operaciones de impresión, se refieren al traspaso de tinta, desde el acarreador de imagen hasta el sustrato, que es la superficie de aplicación. Mientras que, las operaciones de post-impresión involucran el ensamblado de materiales impresos y consisten en cortar, doblar, montar y unir. Un sustrato es cualquier material sobre el cual la tinta es impresa, tal como papel, madera, metal, plástico o textil. Sin embargo; no todos los materiales impresos son sujetos a todos los procesos (Field, 1980).

Una amplia variedad de compuestos químicos son utilizados en cada proceso de impresión (PNEAC, 1996). El tipo de exposición propio de cada proceso depende de las tintas de impresión utilizadas y de la probabilidad de inhalación (neblinas, vapores de disolventes, etc.) y de contacto con la piel durante las

operaciones de limpieza (Friedlander, 1997) Las operaciones de pre-impresión con frecuencia involucran compuestos químicos para el fotoproceso y soluciones. Las tintas y disolventes de limpieza son los principales tipos de agentes químicos usados durante las operaciones de impresión. Dependiendo del objetivo final del trabajo requerido, los procesos de post-impresión pueden usar grandes cantidades de adhesivos. Esto es verdad especialmente donde está involucrada la producción de libros y directorios. De todos los compuestos químicos usados en una planta de impresión típica, las tintas y disolventes de limpieza orgánicos son las categorías empleadas en cantidades más grandes (PNEAC, 1996; Mendoza-Cantú *et al.*, 2006), y son los principales causantes de la emisión de contaminantes a la atmósfera. Estos disolventes son mezclas químicas complejas que contienen diferentes tipos de hidrocarburos, como alcanos, cetonas, aldehídos, ésteres, éteres y pequeñas moléculas aromáticas, que se evaporan y llegan a incorporarse al aire ambiental como compuestos orgánicos volátiles (VOCs) (Mercado-Calderón, 1997; Winder y Stacey, 2004).

Muchos de los compuestos químicos utilizados en la industria de la impresión son potencialmente dañinos para la salud humana y el ambiente (Tabla 4). La evaporación de los disolventes y la potencial neblina de tinta presentan un riesgo de inhalación de compuestos que pueden ser tóxicos. Además; la vigilancia sistemática de la impresión, el llenado de depósitos y cubetas, la limpieza de cilindros y volantes y demás tareas afines favorecen el contacto con tintas y disolventes limpiadores (Miller, 1997).

La Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) llegó a la conclusión de que la exposición profesional a los procesos de impresión posiblemente es una actividad carcinogénica para el hombre (IARC, 1996). En estudios epidemiológicos y documentación de casos sobre las industrias gráficas, se han detectado indicios de tasas más altas de cáncer de pulmón entre los impresores (Leon *et al.*, 1994), y aparición de melanomas malignos (Dubrow, 1986; Nielson *et al.*, 1996).

**Tabla 4. Exposiciones potenciales en los procesos de impresión (Friedlander, 1997).**

<b>Proceso</b>	<b>Tipo de tinta</b>	<b>Disolvente</b>	<b>Exposiciones potenciales</b>
Flexografía y Huecograbado	Tintas líquidas (baja viscosidad)	Volátiles Agua	Disolventes orgánicos: xileno, benceno
Tipografía y Litografía	Tintas compactas (viscosidad elevada)	Aceites: vegetales, minerales	Neblina de tinta: disolventes hidrocarbonados, isopropanol, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs)
Serigrafía	Tintas semifluidas	Volátiles	Disolventes orgánicos: xileno, ciclohexanona, acetato de butilo

Otros peligros asociados con la exposición a los disolventes incluyen daños a los sistemas respiratorio, muscular y nervioso, además de disminución en la destreza y agilidad, irritabilidad, deterioro de la habilidad de concentración, daño a la memoria, disminución de la capacidad de aprendizaje, cambios de personalidad, apatía, encefalopatía tóxica, fatiga, debilitamiento de los ojos, daño a los riñones e hígado y otras (CONAMA-RM, 1999).

La importancia ambiental que se adjudica a la industria de la impresión se ratifica por la necesidad de controlar las emisiones atmosféricas, asociadas al manejo de disolventes y tintas, la necesidad de manejar residuos líquidos industriales provenientes de procesos de revelado y tratamiento y el problema de residuos sólidos que va desde una importante presencia de elementos reciclables, como el papel, hasta la existencia de residuos peligrosos, tanto por características de toxicidad, inflamabilidad y reactividad (CONAMA-RM, 1999).



#### 1.4 Monitoreo del Aire.

A través de nuestras vidas, los humanos y otros organismos estamos continuamente expuestos a miles de compuestos químicos, tanto de origen natural (aquellos encontrados en el suelo o producidos por plantas, animales u otros organismos), como los creados por el hombre (farmacéuticos, desinfectantes, jabones y detergentes, así como subproductos de la combustión y otros contaminantes). La exposición puede ser compleja y provenir de una amplia variedad de fuentes potenciales (Grant, 1998; Becker *et al.*, 2003; Paustenbach y Galbraitt, 2006).

La contaminación del aire representa una amenaza para la salud humana y ambiental; se ha estimado que millones de toneladas de contaminantes tóxicos son liberados en el aire cada año (Dickson, 1998; González y Zúñiga, 2006) y mezclados en el aire son una de las principales causas de daño al DNA (Piraino *et al.*, 2006). Además estudios epidemiológicos han señalado que una larga exposición a la contaminación del aire puede llevar al desarrollo de enfermedades respiratorias y cardiovasculares crónicas e incluso causar cáncer (Sawicki, 1977; Cohen y Pope, 1995; Yu, 2001; Jerrett *et al.*, 2005).

La estimación del potencial genotóxico de un aire contaminado es crucial para evaluar el riesgo a la salud pública y ambiental (Piraino *et al.*, 2006). Desafortunadamente, los métodos físicos y químicos actuales para estimar la genotoxicidad del aire proveen insuficiente información para cuantificar correctamente el riesgo a la biota. La mayoría de los tóxicos del aire son desconocidos o actualmente no son medidos por las estaciones de monitoreo de la calidad del aire existentes. Sin embargo, el riesgo potencial de un contaminante medido por las estaciones de monitoreo es solamente calculado como una función de su concentración en fase de vapor (Lowry, 1995). Las estaciones de monitoreo miden tóxicos conocidos que se sabe que sí dañan; no miden todo y los datos que dan, sí permiten estimar tiempo de exposición en

forma burda; lo que no se considera son los efectos de la mezcla, pero informan sobre la composición de la mezcla.

La presencia de estos compuestos químicos en el ambiente (agentes tóxicos), determinará una concentración que es específica para cada lugar y que es la concentración de moléculas activas a las cuales están expuestos los individuos que se encuentran en tales lugares. Esa concentración se puede considerar como una concentración externa o ambiental de tales sustancias, la cual será absorbida o incorporada por los organismos (Zauke *et al.*, 1995; González y Zúñiga, 2006). El muestreo y la medición de estos compuestos químicos y otros agentes, es parte complementaria del llamado “biomonitoreo” (DeCaprio, 1997; Paustenbach y Galbrait, 2006).

En contraste con los métodos físicos y químicos, los métodos biológicos permiten la evaluación directa del potencial genotóxico de estresores en el aire. Así, estos datos biológicos pueden ser usados para estimar impacto ambiental y el impacto potencial sobre la salud de otros organismos, incluyendo los humanos (Piraino *et al.*, 2006).

## **1.5 Biomonitorio**

El biomonitorio es una herramienta para evaluar la exposición de los organismos a compuestos naturales y sintéticos en el ambiente (Morgan, 1996; Kamrin, 2004). Su principal meta es evaluar el potencial de los compuestos químicos para bioacumularse en los sistemas ecológicos, identificar las estrategias de acumulación correspondientes y analizar los efectos biológicos a diferentes escalas de observación, desde el secuestro intracelular de las sustancias hasta efectos a nivel de poblaciones, comunidades o ecosistemas (Zauke *et al.*, 1998).

El biomonitoreo proporciona información que puede ser usada en distintas formas: ayuda a identificar los compuestos químicos que están en el ambiente y los niveles relativos de cada uno, cómo estos niveles cambian en el tiempo y cuáles sectores de la población pueden tener exposiciones inusualmente altas a compuestos particulares. Con estos datos, es posible evaluar la efectividad de los pasos tomados para reducir las exposiciones, identificar nuevas investigaciones que pudieran ser necesarias para obtener un mejor diagnóstico (González y Zuñiga, 2006) y para comprender cómo la exposición de los organismos a estos compuestos puede llevar al incremento en los niveles de morbilidad y mortalidad.

Otros aspectos que deben ser considerados en el biomonitoreo incluyen factores toxicológicos o epidemiológicos, adecuado tamaño de muestra, reproducibilidad de la respuesta medida y factores de exposición tales como el tiempo desde la última exposición, promedio de la dosis recibida, duración y frecuencia de la exposición (Paustenbach y Galbraitt, 2006)

El proceso de biomonitoreo involucra tres pasos: (1) seleccionar qué tipo de muestra será monitoreada, así como cuando y dónde, (2) realizar la colecta de muestras y (3) decidir cuales compuestos químicos se estudiarán y analizarán de las muestras que son colectadas; siendo éste proceso complejo y caro. Debido a la naturaleza de las mezclas complejas, los análisis químicos no son suficientes para evaluar su genotoxicidad potencial. Alternativamente, los bioensayos proveen medidas de los efectos tóxicos de compuestos químicos sobre organismos clave que son de particular interés en ecotoxicología y evaluación de riesgo ambiental (Walker, 1998), como la prueba de micronúcleos o la de intercambio de cromátidas hermanas, que no requieren información previa acerca de la composición química de la sustancia evaluada y pueden efectivamente evaluar la genotoxicidad de una muestra compleja (Siddique *et al.*, 2005).

Kakkar *et al.* (1996); Lam y Gray (2003); Sundberg *et al.* (2005), establecen que quizá la fuerza más importante del biomonitoreo es que es la única herramienta que:

- 1) puede proveer una medida directa de la exposición de los organismos,
- 2) integra o suma las exposiciones de múltiples fuentes y/o mezclas complejas,
- 3) integra o suma las exposiciones por todas las rutas,
- 4) provee un reflejo de la exposición total,
- 5) ayuda a extrapolar datos de sitios accesibles a procesos en sitios inaccesibles.

Esta fuerza del biomonitoreo puede también ser vista como una limitación de acuerdo a Mayer *et al.* (1992); Lauwerys y Hoet (2001); Kamrin (2004); Paustenbach y Galbraitt (2006); ya que no es posible determinar las contribuciones relativas de las fuentes individuales. Otras limitaciones son:

- 1) dependiendo del diseño o de la prueba utilizada se obtiene información de la exposición en un punto en el tiempo; ya que no puede brindar información sobre el curso en el tiempo de la exposición,
- 2) no se puede determinar si ocurrió como resultado de una exposición simple, múltiples exposiciones independientes sobre un largo periodo de tiempo, exposición continua o alguna combinación de éstas,
- 3) para cada compuesto químico involucrado en estudios de monitoreo es necesario dar considerable atención a la toxicocinética antes de interpretar el significado de los datos obtenidos,
- 4) si las exposiciones son intermitentes y el biomarcador es de vida corta, frecuentemente es difícil coleccionar muestras disponibles para el biomonitoreo,
- 5) la amplia variabilidad de la vida media biológica de los químicos es también importante, especialmente considerando que las fluctuaciones de los niveles contaminantes son típicamente grandes en el ambiente.

Sin embargo, el biomonitorio puede ser una alternativa a otras formas de monitoreo de exposición, al ser más económico y más práctico (Lam y Gray, 2003; Harper, 2004), además de que provee un entendimiento mecanístico de los efectos de la concentración de contaminantes en tejidos biológicos y permite el establecimiento de relaciones causales y sobre todo, la medición de los efectos biológicos puede ser ligada a cambios ambientales de manera significativa (Mayer *et al.*, 1992; Sundberg *et al.*, 2005).

Hasta hace poco, el biomonitorio ha sido usado en ambientes ocupacionales y un número limitado de ambientes clínicos. El uso extensivo del biomonitorio para evaluar exposiciones de la población a sustancias químicas en ambientes exteriores e interiores es mucho más reciente y está diseñado para cumplir un número de propósitos. Dos de las principales metas son determinar: (1) cuáles compuestos químicos están presentes a niveles lo suficientemente altos para dejar trazas en los organismos que puedan ser cuantificables y (2) los niveles relativos de estos compuestos en una mezcla compleja (Kamrin, 2004). El monitoreo biológico de exposiciones a mezclas complejas es un campo de interés creciente en muchos laboratorios donde se realizan investigaciones toxicológicas y ocupacionales (Bieniek *et al.*, 2004).

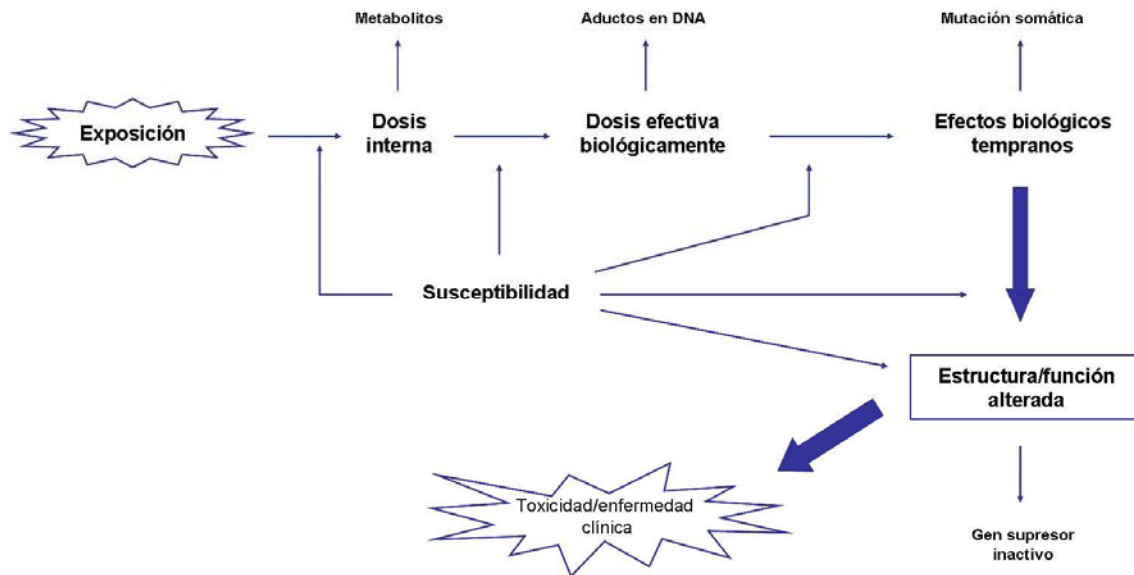
Para la evaluación de riesgo, el biomonitorio solo genera una parte de los datos necesarios, mismos que deben ser combinados con datos de toxicidad, ya que el biomonitorio provee datos sobre la exposición que no pueden ser usados por sí mismos en la evaluación de riesgo. Solamente en casos especiales se pueden hacer inferencias del riesgo a partir de datos del biomonitorio. Los resultados del biomonitorio pueden ayudar a sugerir cuáles compuestos ambientales son de mayor importancia, cuáles son los antecedentes y niveles de referencia para estos compuestos, y cuáles sectores de la población pueden ser los más altamente expuestos; también, pueden ser usados para estimar el impacto ambiental y el impacto potencial sobre otros organismos (Kamrin, 2004; Piraino *et al.*; 2006).

La calibración de los biomonitores es necesaria, incluso cuando se considera sólo a una especie, debido a que las poblaciones pueden haber desarrollado adaptaciones para diferentes condiciones ambientales, especialmente en ecosistemas contaminados por metales (Mulvey y Diamond, 1991). La calibración involucra la evaluación de parámetros toxicocinéticos, la dilucidación de las vías de entrada, eliminación y mecanismos de almacenamiento y la validación de parámetros invariables o tasas constantes bajo diferentes condiciones de exposición (Ritterhoff *et al.*, 1996). Por lo que identificar un grupo de organismos específicos, los cuales sean particularmente sensibles (o insensibles) será de gran importancia en la selección de especies en monitoreo ambiental y pruebas de toxicidad (Wu *et al.*, 2005).

El biomonitoreo ha llegado a ser más útil en los años recientes, como resultado de los avances en la capacidad para medir cantidades menores de sustancias químicas en los organismos. Además; esta técnica toma ventaja del conocimiento de que los compuestos químicos que han entrado al organismo pueden alterar procesos biológicos relacionados con esta exposición (Rainbow y Phillips, 1993; Peakall y Shugart, 1993; Kamrin, 2004). Estos indicadores son llamados biomarcadores.

Los biomarcadores son definidos como medidas cuantitativas de cambios en los sistemas biológicos que responden a la exposición y/o dosis de sustancias xenobióticas que derivan en efectos biológicos (Figura 2). El uso del término biomarcador es frecuentemente restringido a cambios celulares, bioquímicos, moleculares, o fisiológicos que son medidos en células, fluidos corporales, tejidos, u órganos de un organismo (Mayer *et al.*, 1992; Rappaport *et al.*, 1995; Peakall y Shugart, 1998; Herber *et al.*, 2001; Becker *et al.*, 2003; González y Zuñiga, 2006). Los cambios que ocurren en los organismos, poblaciones y niveles grupales son usualmente referidos como bioindicadores (Lam y Gray, 2003). El término biomarcadores puede incluir las respuestas de animales,

plantas, invertebrados, o microorganismos a estresores físicos o químicos (Que, 1993).



**Figura 2. Posibles biomarcadores durante la progresión de la toxicidad/enfermedad. Modificado de Kakkar y Jaffery (2005).**

Mayer *et al.* (1992); Dor *et al.* (1999); Wu *et al.* (2005), señalan que un biomarcador, para ser útil en la práctica de monitoreo, debe:

- 1) mostrar una buena relación cuantitativa (dosis-respuesta) a niveles de contaminantes (o estrés) en el ambiente,
- 2) proveer un estimado integrado en tiempo de los niveles de contaminantes a través del periodo de monitoreo,
- 3) mostrar un efecto claro y no ambiguo,
- 4) no ser sensible a factores de confusión que pueden prevalecer en el ambiente (p.ej. variación estacional, temperatura, salinidad, sexo, tamaño y manejo, inter- e intra- variabilidad individual),
- 5) ser ecológicamente relevante, permitiendo hacer predicciones sobre riesgo ecológico en el ambiente receptor,
- 6) ser sensible y específico al contaminante en cuestión,
- 7) ser reproducible,

- 8) estar disponible la mayoría del tiempo,
- 9) ser económicos.

En particular se han propuesto tres tipos diferentes de biomarcadores:

- de exposición: hacen referencia a la cuantificación de xenobióticos, o sus metabolitos y a la interacción de cualquiera de ellos con células o moléculas diana, que puedan ser identificados y cuantificados en un compartimiento corporal determinado (Morgan, 1996; Olea *et al.*, 2002).
- de susceptibilidad: son efectos indicativos de un estado fisiológico o bioquímico alterado que puede predisponer a los individuos al impacto de agentes químicos, físicos o infecciosos (Eubanks, 1994; Klaassen, 2001).
- de efecto, se definen en términos de la alteración hormonal, bioquímica, fisiológica o de cualquier otro tipo que pueda ser medida y cuantificada y que, dependiendo de su magnitud, pueda ser reconocida como una desviación del patrón normal, un efecto adverso o un signo de enfermedad (Becker *et al.*, 2003; Lam y Gray, 2003).

## **1.6 *Drosophila melanogaster***

*Drosophila melanogaster* o mosca del vinagre, pertenece al orden *Díptera*, el cual agrupa a aquellos insectos en los que sólo el primer par de alas es funcional como órgano de vuelo y el segundo se ha transformado en órganos del equilibrio, llamados halterios o balancines. Es un organismo representativo de la familia *Drosophilidae*, que incluye a mosquitas pequeñas, con algunas cerdas y venación característica de las alas, el género *Drosophila* comprende varias especies de moscas con la vena subcostal degenerada, incompleta o ausente; las pertenecientes a la especie *D. melanogaster* tienen dos interrupciones en la vena costal (Meigen, 1830; Ramos *et al.*, 1993; Markow y O'Grady, 2006).



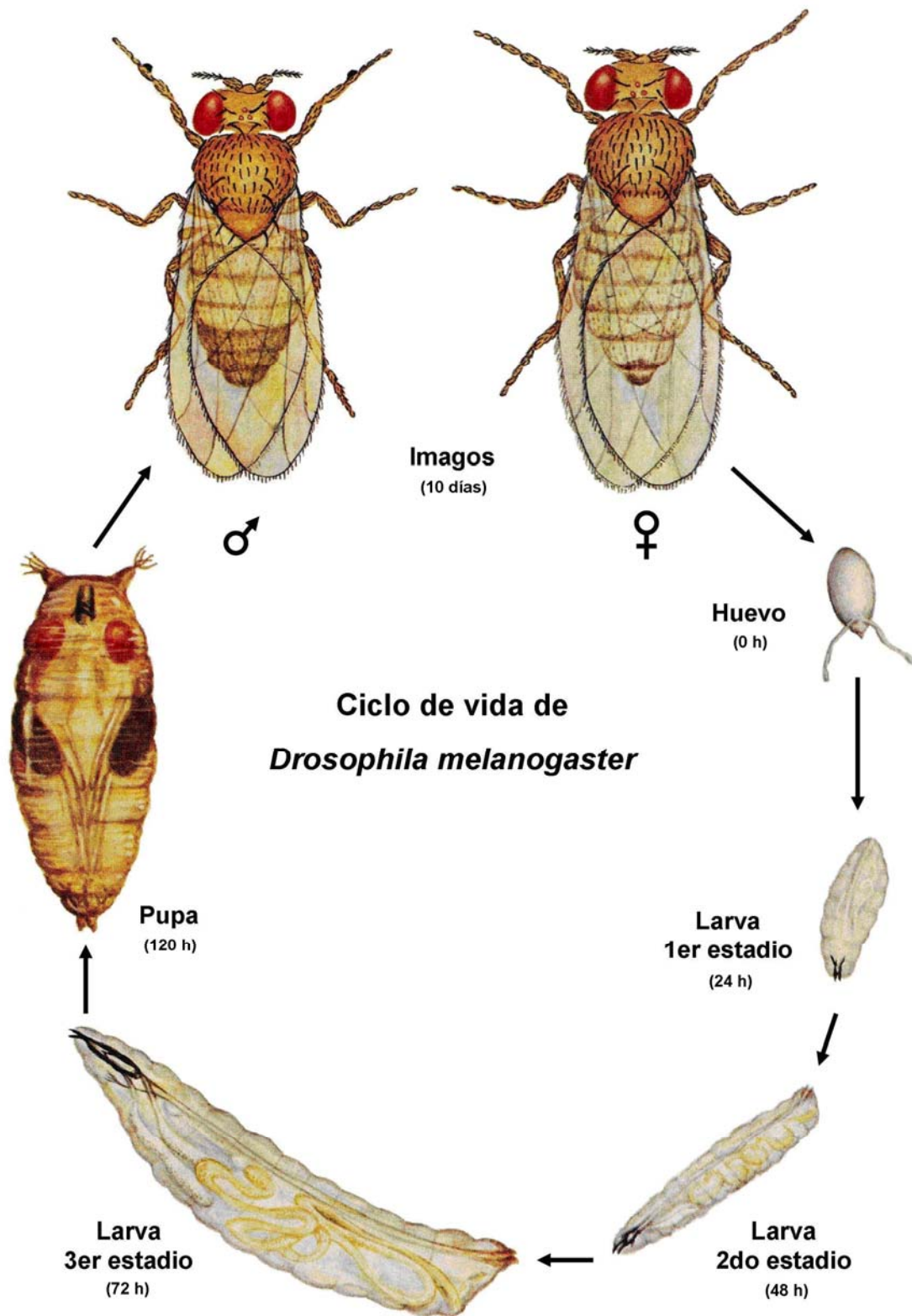
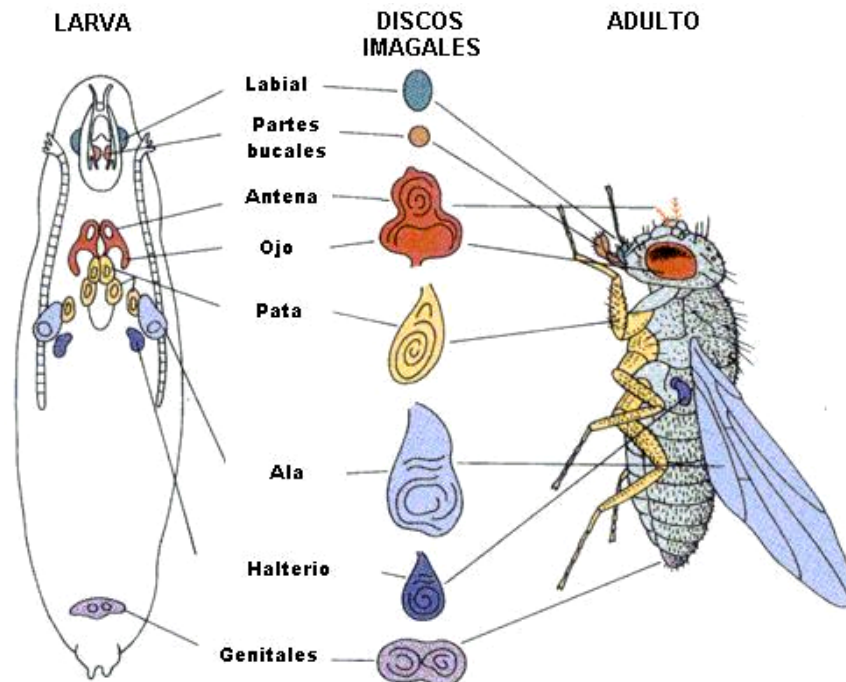


Figura 3. Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*.  
 Modificada de Garrido (2007).

El desarrollo embrionario posterior a la fertilización del óvulo, se realiza en las membranas del huevo, el cual se transforma en una larva que pasa por tres estadios, para luego transformarse en una pupa donde se lleva a cabo la organogénesis y finalmente la eclosión del adulto o imago (Rodríguez-Arnaiz y Ramos, 1992) (Figura 3). Así, la duración del ciclo de vida completo es de aproximadamente 10 días en condiciones controladas de temperatura y humedad relativa, 25°C y 60% respectivamente (Ramos *et al.*, 1993; Muñoz, 1995).

Las larvas de *Drosophila* contienen dos distintos conjuntos de células, las larvarias y las imagales. Las células larvarias presentan endomitosis, por lo que el material genético se duplica pero no se segrega, por lo que no aumentan en número pero sí en su tamaño, porque contienen múltiples copias de cada cromosoma, por lo que se denominan politénicos. Estas células forman los órganos vitales de la larva (la epidermis y musculatura, los sistemas nerviosos central y periférico) y los órganos del tracto digestivo. La mayoría de estos tejidos serán destruidos en la metamorfosis y serán reemplazados por tejidos formados a partir de células imagales (Weinkove y Leervers, 2000; Niwa *et al.*, 2004).

Las células imagales precursoras no llevan al cabo funciones vitales para la larva y son secuestradas como primordios físicamente distintos: los discos imagales (Figura 4). Los diferentes discos son determinados como discos tipo, las células imagales son diploides y multiplican su número por mitosis pero alcanzan la diferenciación hasta la metamorfosis que ocurre en el interior del puparium, el cual se forma a las 120 h de edad (Alberts *et al.*, 1994; Sánchez y Guerrero, 2001; Mathews *et al.*, 2002; Klebes *et al.*, 2002; Adachi-Yamada y O'Connor, 2002).

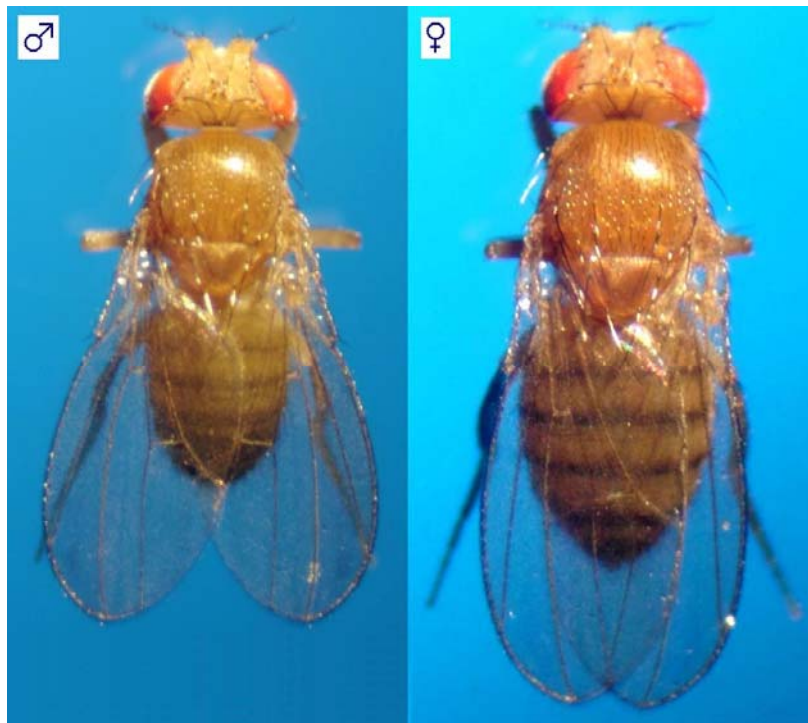


**Figura 4. Discos imagales en el desarrollo de *Drosophila*.  
Modificado de Mathews *et al.* (2002).**

En *Drosophila melanogaster* se presenta dimorfismo sexual positivo hacia la hembra, es decir, el tamaño de las hembras por lo general es mayor que el de los machos; la hembra no tiene los segmentos fusionados en su extremo terminal del abdomen, en tanto que el macho presenta tres segmentos fusionados; la terminación del abdomen de la hembra es ligeramente puntiaguda en contraste con la del macho, que es más redondeada; otras estructuras auxiliares son los peines sexuales, que son únicas de los machos y se localizan en la región basal del tarso del primer par de patas (Ramos *et al.*, 1993) (Figura 5).

*Drosophila melanogaster* ha sido uno de los organismos modelo favoritos de los genetistas, desde que Thomas Hunt Morgan decidió usarla para investigar la teoría cromosómica de la herencia al comienzo del siglo pasado (Kohler, 1994), y más recientemente como organismo modelo en campos como genética molecular, biología del desarrollo, neurobiología, en el estudio de

fenómenos endocrinológicos (Gilbert, 2004) y para estudiar enfermedades y adicciones humanas (Schneider, 2000). Su tamaño pequeño y ciclo de vida corto comparado con el modelo de ratón, la presencia de cromosomas politénicos en tejidos como los de las glándulas salivales, la numerosa descendencia que produce en cada generación, el bajo costo de su mantenimiento (Muñoz, 1995; Johnston, 2002), y la reciente elucidación del genoma de *Drosophila*, hacen que la mosca del vinagre sea altamente ventajosa para estudios en ciencias de la vida (Gilbert, 2004).



**Figura 5. Macho y hembra de moscas *Drosophila melanogaster* con fenotipo silvestre (Canton-S). Cortesía de M. en C. Adriana Muñoz H.**

Morgan también descubrió que tenía muchas otras ventajas para los análisis genéticos. Por ejemplo, no hay recombinación meiótica en machos, su exoesqueleto le provee de una riqueza de rasgos externos, tales como cerdas, venas en alas y ojos compuestos, los cuales puede ser afectados por mutaciones, y para lo cual los fenotipos mutantes resultantes pueden ser

registrados simplemente observándolos en un microscopio estereoscópico. Este comienzo temprano en las investigaciones sobre Genética ha construido generaciones exitosas de drosofilistas, quienes han desarrollado un creciente repertorio de técnicas que hacen de *Drosophila* uno de los organismos multicelulares más tratables para análisis genéticos (Rubin y Lewis, 2000).

**Tabla 5. Ensayos Genéticos en *Drosophila* (Vogel et al., 1999).**

<b>Evento genético</b>	<b>Número de generaciones</b>	<b>Tipo de daño al DNA</b>
<b>Pruebas con células germinales</b>		
Mutaciones letales recesivas ligadas al sexo	2	Substituciones de bases, mutaciones del marco de lectura, deleciones, aberraciones pequeñas.
Mutaciones letales recesivas autosómicas	3	Substituciones de bases, mutaciones del marco de lectura, deleciones, aberraciones pequeñas.
Mutaciones visibles en loci seleccionado	1-2	Substituciones de bases, mutaciones del marco de lectura, deleciones, aberraciones pequeñas (análisis molecular).
Traslocaciones heredables	2	Aberraciones cromosómicas recíprocas.
Aberraciones cromosómicas; pérdida de cromosomas sexuales X o Y	1	Aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas.
Mutaciones letales dominantes	1	Aberraciones cromosómicas no-viables.
Aneuploidia	1	Aberraciones cromosómicas, no-disyunción.
<b>Pruebas con célula somáticas:</b>		
Pérdida de heterocigocidad debida a recombinación (y eventos mutacionales)	1	Recombinación homóloga e intracromosómica, reconversión génica, deleción, aberraciones cromosómicas, no-disyunción, mutación.
Mutación somática, inserción o pérdida de fragmentos de DNA	1	Mutación, aberraciones cromosómicas, recombinación.
Reparación del DNA	1	Daño al DNA procesado por escisión y/o reparación post-replicativa

*Drosophila* ha realizado una función dual en el campo de la toxicología genética: para uso en pruebas de corto término para identificar carcinógenos y en un modelo para estudios de los mecanismos de mutagénesis por compuestos químicos (Tabla 5). Hasta mediados de los 1980's, el uso de

*Drosophila* en pruebas de corto término estaban restringidas a ensayos para daño genético en células germinales, principalmente en machos. La amplia selección de genes reporteros apropiados y cromosomas balanceadores han permitido detectar el espectro completo de daño genético en células germinales de *Drosophila*, desde mutaciones letales recesivas (o visibles), deleciones, translocaciones, pérdida cromosómica, mutaciones letales dominantes, hasta aneuploidías (Würgler *et al.*, 1984).

*Drosophila* puede ser muy valiosa para la evaluación de los mecanismos de acción de carcinógenos químicos en organismos superiores, debido a que posee un sistema de desintoxicación semejante en muchos aspectos al sistema correspondiente en mamíferos, lo cual hace posible extrapolar los datos a mamíferos (Hällström y Grafström, 1981). Tales análisis no solo deberían tomar ventaja de la posibilidad de establecer el efecto de los compuestos químicos sobre diferentes blancos genéticos, sino también de su interacción en éstos. Tales interacciones pueden contribuir al entendimiento de los mecanismos de acción de agentes mutagénicos y carcinogénicos; así como para identificar químicos antimutágenos y anticarcinógenos potencialmente útiles (Ramel y Magnusson, 1992).

En los últimos años, *Drosophila melanogaster* ha sido utilizada como biomonitor en el área de monitoreo ambiental para evaluar la genotoxicidad de muestras ambientales (Tabla 6).

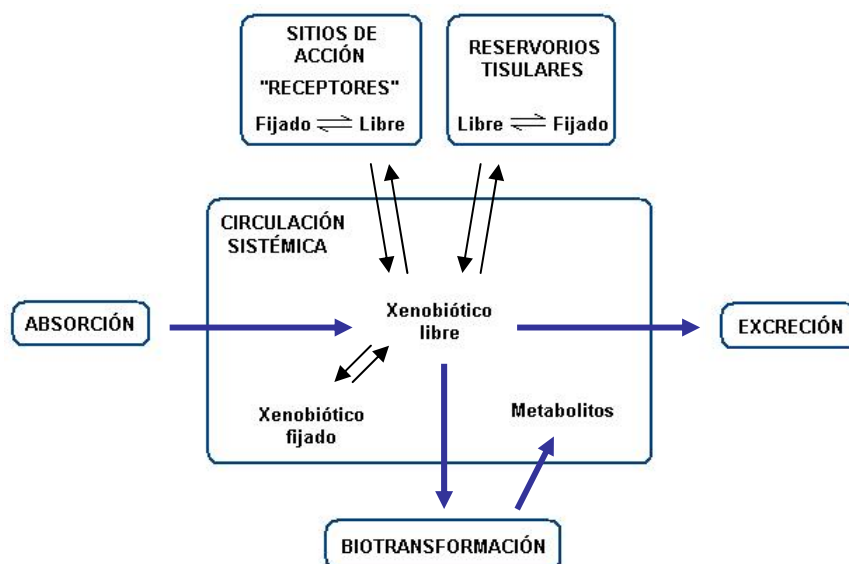
**Tabla 6. *Drosophila melanogaster* como biomonitor.**

Muestra	Efectos	Respuesta	Referencia
▪ Extractos de partículas de aire	Genotóxicos	+	Graf y Singer, 1989
▪ Contaminantes aéreos	Mutagénicos y Genotóxicos	+	Guzmán y Graf, 1995
▪ Concentrados de humo de cigarro	Mutagénicos y Recombinogénicos	+	Guzmán <i>et al.</i> , 1995
▪ Muestras de agua sin concentrar, colectadas de pozos de agua ubicados en el estado de Hidalgo	Mutagénicos	+	Ramos <i>et al.</i> , 2000
▪ Muestras de agua sin concentrar, colectadas de pozos de agua ubicados en Los Azufres, Michoacán	Genotóxicos	+	Arellano, 2002
▪ Filtrados de agua de pozos ubicados en Los Azufres, Michoacán	Genotóxicos	+	Ramos-Morales y García-Galindo, 2002
▪ Muestras de agua de la laguna de Caimanero, Sinaloa	Genotóxicos	+	De la Rosa-Duque <i>et al.</i> , 2002
▪ Fracciones de extractos orgánicos de aeropartículas de la Ciudad de México	Genotóxicos	+	Delgado, 2002
▪ Muestras de agua en el estado de Río Grande do Sul en Brasil	Genotóxicos	+	Souza <i>et al.</i> , 2005
▪ Residuos de cromo de Cromatos de México en Lechería Edo. de México	Genotóxicos	+	Ledezma, 2006
▪ Muestras de agua de la peletera "Cortijos Toluca"	Tóxicos y Genotóxicos	+	Morales y Ramos-Morales, 2006
▪ Muestras de aguas residuales de Curtidos Toluca	Tóxicos	+	Tejeda-Rodríguez <i>et al.</i> , 2006
▪ Muestras ambientales de cromo en el Edo. de México	Genotóxicos	+	Muñoz, 2007

(+) respuesta positiva, (-) respuesta negativa

## 1.7 Metabolismo de Xenobióticos

Para que las sustancias químicas ejerzan sus acciones nocivas sobre los seres humanos y los animales, se requiere que entren en contacto con ellos. Cuando esto sucede, la acción de los xenobióticos se puede realizar: en el sitio de contacto (tóxicos de acción local) o en el interior del organismo (tóxicos de acción sistémica). En general, los xenobióticos entran en contacto con los seres vivos debido a la contaminación del ambiente y de los alimentos. Para que una sustancia llegue a su sitio de acción requiere primeramente ser absorbida, es decir, el xenobiótico debe cruzar diversos tejidos para alcanzar el torrente sanguíneo y luego ser distribuido por este fluido en los tejidos corporales, hasta alcanzar su sitio de acción (Cashman *et al.*, 1996; Jaramillo y Acevedo, 2006). En la figura 6 se muestra una representación esquemática de la interrelación de la absorción, distribución, fijación, biotransformación y excreción de un xenobiótico en sus sitios de acción.



**Figura 6. Dinámica de la absorción, distribución y eliminación de xenobióticos. Modificada de Goodman y Gilman (1991).**



Los procesos de biotransformación, conocidos como metabolismo o desintoxicación, que aumentan la hidrosolubilidad, son esenciales, junto con la eliminación, para terminar los efectos tóxicos de estos compuestos. La mayor parte de los xenobióticos son biotransformados en el organismo y en organismos como los vertebrados, el hígado es el órgano con la mayor capacidad para realizarla, aunque otros órganos pueden participar decididamente en la desintoxicación total del organismo (Reyes y Posadas, 2006).

*Drosophila* puede realizar *in vivo* la mayoría de las funciones enzimáticas que se efectúan en los microsomas del hígado de vertebrados, lugar donde se activan gran cantidad de los carcinógenos y mutágenos indirectos. Además, posee enzimas del sistema de citocromo P450 que se caracterizan por su baja especificidad por sus sustratos, muy similar a la fracción S-9 del hígado de mamíferos (Baars *et al.*, 1980; Zijlstra y Vogel, 1988; Rodríguez-Arnaiz y Ramos, 1992; Arellano, 2002; Wilson, 2005) y también porta enzimas glutatión-S-transferasas (Wilson, 2001).

Los diversos tipos de reacciones de biotransformación se clasifican como de Fase I y II. Las reacciones de Fase I (oxidación, reducción e hidrólisis) disminuyen generalmente los efectos tóxicos, aunque pueden no modificarlos e, incluso, aumentarlos. Las reacciones de oxidación y reducción son catalizadas por el sistema del Citocromo P450 (CYP450), que se localiza en el retículo endoplásmico liso (fracción microsómica) de la mayoría de las células del organismo, pero las concentraciones mayores se encuentran en el hígado e intestino delgado (Lewis *et al.*, 1998; Reyes y Posadas, 2006).

Las enzimas del sistema CYP450 constituyen una superfamilia de hemoproteínas involucradas en la biotransformación de una gran variedad de xenobióticos (fármacos, carcinógenos, toxinas) y compuestos endógenos (esteroides, ácidos grasos, prostaglandinas). Las enzimas P450 utilizan

NADPH y O<sub>2</sub> para adicionar un grupo hidrofílico al genotóxico, una acción que usualmente lo hace menos tóxico y más fácilmente excretado (Fuchs *et al.*, 1993; Cashman *et al.*, 1996; Bergé *et al.*, 1998; Scott *et al.*, 1998; Werck-Reichhart y Feyereisen, 2000; Wilson, 2001; Badyal y Dadhich, 2001; Katzung, 2005). Sin embargo, las enzimas también pueden convertir compuestos no tóxicos en intermediarios químicos altamente reactivos tales como epóxidos los cuales reaccionan con DNA, RNA o proteínas; produciendo efectos citotóxicos, genotóxicos y carcinogénicos (Nebert y González, 1987; Jowett *et al.*, 1991; Handschin y Meyer 2003; Vega y Reyes, 2006).

Una enzima individual puede ser capaz de biotransformar muy diversos xenobióticos (Reyes y Posadas, 2006) y cambios en un solo aminoácido en la enzima pueden alterar la afinidad por los sustratos, dando como resultado una amplia plasticidad (Wilson, 2001). El estudio de CYP450 en *Drosophila melanogaster* se ha acelerado recientemente con el aislamiento de los genes y la identificación de una variedad de actividades enzimáticas de P450 (Tabla 7). Se ha establecido que *Drosophila melanogaster* tiene más de 90 genes P450, cuatro de los cuales son pseudogenes (Feyereisen, 1999; Wilson, 2001).

**Tabla 7. Expresión de P450s en *D. melanogaster*. Modificada de Scott *et al.* (1998).**

Isoformas	Estadio				Tejidos*	Referencias
	Embrión	Larva	Pupa	Imago		
<i>CYP4D1</i>	+	+	+	+	NI	Gandhi <i>et al.</i> , 1992
<i>CYP4E1</i>	-	+	-	+	V	Snyder y Davidson, 1996
<i>CYP6A2</i>	NI	NI	NI	+	FB, MG, MT	Brun <i>et al.</i> , 1996; Waters <i>et al.</i> , 1992
<i>CYP6A8,9</i>	NI	NI	NI	+	NI	Maitra <i>et al.</i> , 1996
<i>CYP18</i>	NI	+	+	NI	BW, G	Bassett <i>et al.</i> , 1997; Hurban y Thummel, 1993

Definiciones: +, expresión de mRNA y/o proteína; -, mRNA y/o proteína indetectable; NI, no hay información disponible.

\* Abreviaciones de tejidos: BW, pared del cuerpo; FB, cuerpos grasos; G, intestino; MG, intestino medio; MT, Túbulo de Malpighi; V, vísceras.

Las glutatión-S-transferasas (GSTs) son una familia de proteínas que conjugan el grupo tiol del tripéptido glutatión a una variedad de moléculas orgánicas, facilitando su metabolismo y subsecuente excreción (Daniel, 1993). En *Drosophila melanogaster*, se ha encontrado que existen alrededor de 42 genes GST y esta familia de enzimas de desintoxicación puede probar ser tan compleja y versátil como los P450s (Wilson, 2005).

Las reacciones de Fase II consisten principalmente en glucuronidación, sulfatación, fijación de glutatión, metilación, N-acetilación, o conjugación con aminoácidos. Además, hay actividad de esterasas, amidasas, imidasas, epóxido hidratadas, u otros procesos hidrolíticos que incrementan la hidrofiliidad de xenobióticos (Jakoby, 1994).

La velocidad de biotransformación de tóxicos es modificada por la exposición a algunos contaminantes ambientales, asimismo, es diferente debido a la participación de factores genéticos, fisiológicos y fisiopatológicos (Reyes y Posadas, 2006). Mientras que la tasa de salida de un xenobiótico del organismo depende de la velocidad con la que es biotransformado y de la tasa con la que es excretado a través de su vía o vías de eliminación (Reyes *et al.*, 2006).

Los efectos del xenobiótico pueden aparecer sobre un número de órganos y sistemas del organismo. Una vez que una sustancia ha entrado al organismo, su distribución depende de sus propiedades físicas y químicas, las cuales no solo influyen su biodisponibilidad sino también su efecto. Los efectos adversos de un químico sobre un organismo pueden ser divididos en dos tipos. Primero, hay efectos adversos que solo ocurren después de que la dosis umbral ha sido alcanzada. Exposiciones asociadas con dosis inferiores a la umbral son, además, dañinas. Las sustancias que tienen una dosis umbral para un efecto dado son metabolizadas y/o excretadas antes de que cualquier daño sea hecho. No obstante, en cualquier individuo, incrementar la dosis por arriba

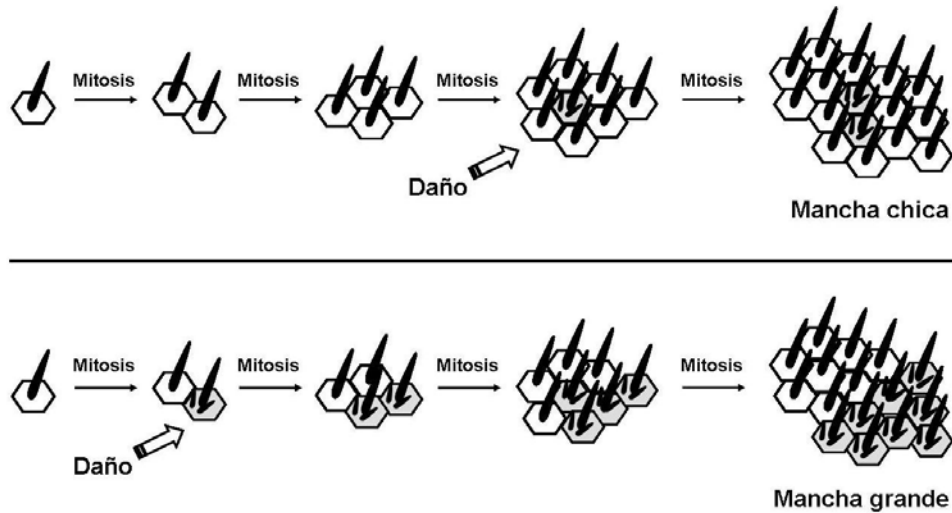
del nivel umbral resultará en efectos crecientes severos. Segundo, hay efectos adversos que se cree que pueden ocurrir a cualquier dosis; para tales efectos no hay dosis dañina ni dosis umbral. Para este segundo grupo, dosis crecientes incrementan la probabilidad de que el efecto ocurra. Por tanto, tales efectos son referidos como efectos aleatorios (Herber *et al.*, 2001).

### **1.8 Prueba de Mutación y Recombinación Somática (SMART).**

La Prueba de Mutación y Recombinación Somática (*SMART, Somatic Mutation and Recombination Test*), fue propuesta por Graf y colaboradores en 1983, y permite valorar diferentes tipos de eventos genéticos mediante la cuantificación de clonas celulares mutantes (manchas), en un contexto de células silvestres (Rodríguez-Arnaiz y Ramos, 1992; Graf, 1995; Hernández, 2000).

Por el tipo de células que se analiza, se tienen dos versiones estándar de la prueba: de los ojos y de las alas (Rodríguez-Arnaiz y Ramos, 1992). El protocolo de la prueba de manchas en ala, utiliza marcadores recesivos que afectan los tricomas de las células epiteliales, la inducción de alguna alteración produce la formación de un clon celular por divisiones mitóticas sucesivas (Jowett *et al.*, 1991).

El tamaño de la mancha producida puede ser un indicador del número de divisiones celulares y/o del tiempo durante el desarrollo en que ocurrió la alteración, por lo que se pueden distinguir de manera preliminar compuestos de acción directa y compuestos que requieren ser biotransformados por el organismo para producir el daño o indirectos. Los indirectos actúan en etapas tardías del desarrollo produciendo clones celulares que se forman con menos ciclos de división y en consecuencia son de menor tamaño (Würgler *et al.*, 1984) (Figura 7).



**Figura 7. Formación de clones celulares y tamaño de mancha.  
Modificado de Maldonado (1997).**

El marcador *mwh* (*multiple wing hairs*) es autosómico recesivo, está ubicado en el brazo izquierdo del cromosoma 3 y produce la aparición de tres o más tricomas por célula en lugar de uno, como en la expresión silvestre. El marcador *flr<sup>3</sup>* (*flare*) está localizado también en el cromosoma 3, produce alteraciones en los tricomas dando el aspecto de una flama o pequeños crecimientos irregulares sobre la superficie de las alas; en condición homocigótica, el marcador es letal, por lo que para mantener los cultivos estables se utiliza el cromosoma balanceador (*TM3, Bd<sup>S</sup>*), que fue construido incluyendo múltiples inversiones pericéntricas que involucran a gran parte del cromosoma 3 y que impide recobrar eventos viables de entrecruzamientos entre los cromosomas homólogos, estabilizando de esta manera al alelo *flr<sup>3</sup>*; además se puede identificar la presencia del balanceador porque contiene al marcador *Bd<sup>S</sup>*, el cual al ser dominante permite reconocer a los organismos portadores, al presentar éstos alas con bordes discontinuos. También es un gen que en condición homocigótica es letal, por lo que en cada generación sexual se establece un sistema de genes letales balanceados y sólo se recobran organismos heterocigóticos *flr<sup>3</sup>/TM3, Bd<sup>S</sup>* (Cuadro 1) (Graf *et al.*, 1984; Lindsley y Zimm, 1992)

**Cuadro 1. Sistema de genes letales balanceados**

	<i>flr<sup>3</sup></i>	<i>TM<sup>3</sup>, Bd<sup>S</sup></i>
<i>flr<sup>3</sup></i>	<i>flr<sup>3</sup>/flr<sup>3</sup></i> <b>letal</b>	<i>flr<sup>3</sup>/TM<sup>3</sup>, Bd<sup>S</sup></i> viable
<i>TM<sup>3</sup>, Bd<sup>S</sup></i>	<i>flr<sup>3</sup>/ TM<sup>3</sup>, Bd<sup>S</sup></i> viable	<i>TM<sup>3</sup>, Bd<sup>S</sup>/ TM<sup>3</sup>, Bd<sup>S</sup></i> <b>letal</b>

De la cruce de hembras de la línea *flare* con constitución genética *flr<sup>3</sup>/In(3LR)TM<sup>3</sup>, Bd<sup>S</sup>* (Kaya *et al.*, 1999; Amrani *et al.*, 1999), y machos de la línea de moscas con pelos múltiples en las alas y cuerpo ébano, cuya constitución genética es *mwh, e*; se obtienen dos tipos de progenie: moscas trans-heterocigas libres de inversiones (*flr<sup>3</sup>/mwh*) y moscas portadoras de múltiples inversiones cromosómicas (*TM<sup>3</sup>, Bd<sup>S</sup>/mwh, e*); en estado larval no se distinguen entre sí, por lo que ambos tipos de progenie se exponen al posible agente genotóxico (Graf *et al.*, 1984).

Las alteraciones detectadas en la prueba *SMART* pueden originarse por varios eventos: mutación, deleción, pérdida cromosómica o recombinación, y se expresan como manchas sencillas con uno u otro de los fenotipos *mwh* o *flr<sup>3</sup>*. Un evento de recombinación entre *mwh* y *flr<sup>3</sup>* puede dar como resultado una mancha sencilla *mwh*. Sin embargo, la recombinación entre *flr<sup>3</sup>* y el centrómero, da lugar a manchas gemelas *mwh-flr<sup>3</sup>* (Figura 8); debido a lo anterior, las manchas gemelas permiten diferenciar la actividad de compuestos recombinogénicos (Graf *et al.*, 1984; Würgler *et al.*, 1985; Muñoz, 1995).

La prueba de manchas en alas es una prueba *in vivo* versátil, es técnicamente simple, corta y de bajo costo, Las larvas pueden ser expuestas para probar compuestos por una o pocas horas o por uno a cuatro días (Graf *et al.*, 1984, Würgler, 1989). Los químicos pueden ser aplicados por alimentación, inhalación e inyección (Graf, 1995). En un tamaño de muestra de 40 alas se analizan aproximadamente un millón de células (García-Bellido y Dapena,

1974). El material biológico puede almacenarse para análisis posterior o verificación de resultados (Hernández, 2000).

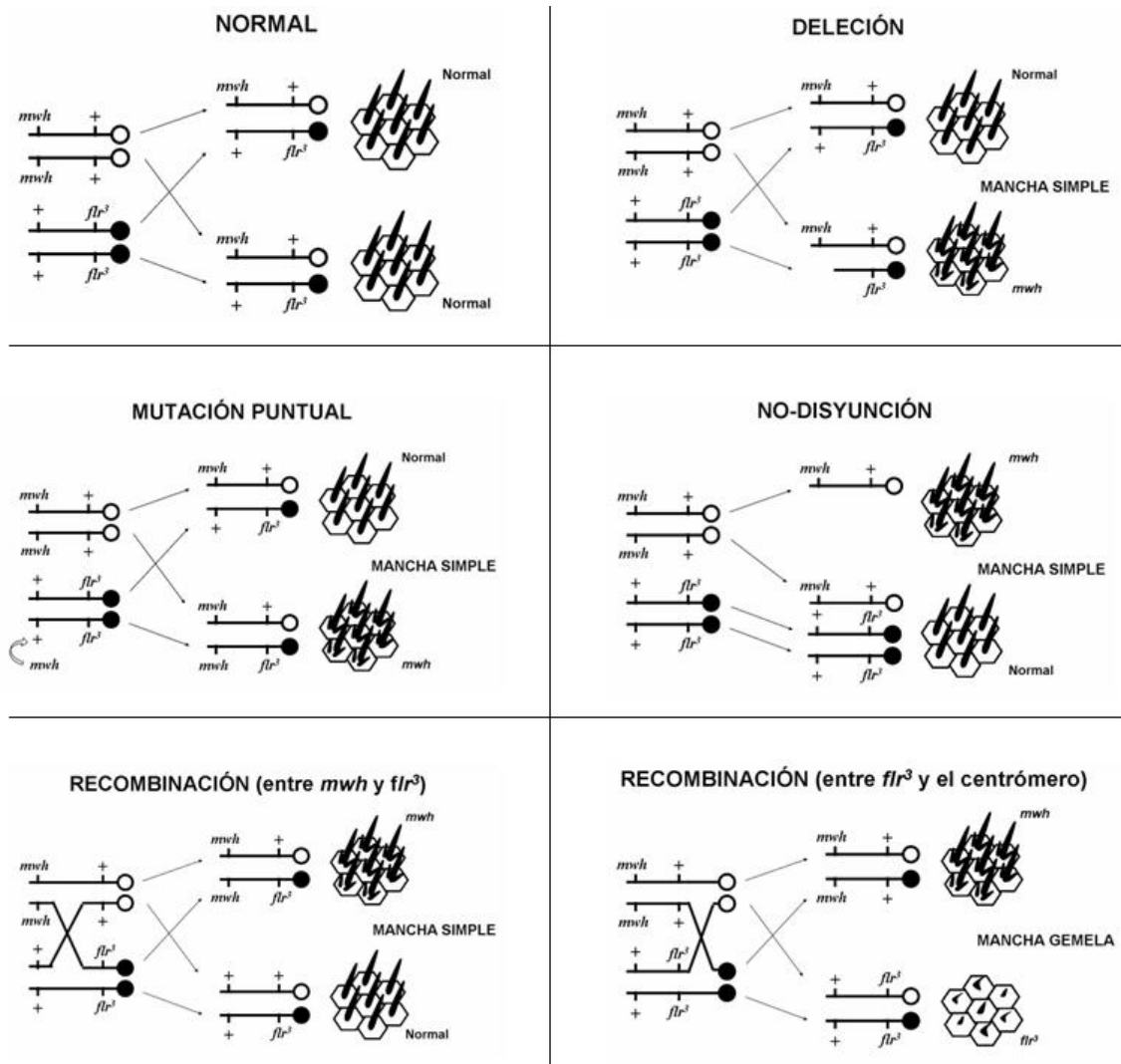


Figura 8. Eventos genéticos que detecta la prueba SMART.  
Modificado de Graf et al. (1984).

Esta prueba se ha utilizado como un biomarcador para detectar niveles ambientales de contaminación, evaluar y detectar efectos mutagénicos o genotóxicos de muestras colectadas (Ramos et al., 2000; Arellano, 2002; Souza et al., 2005; Muñoz, 2007) (Tabla6).

## 2. JUSTIFICACIÓN.

La evaluación de la calidad del ambiente ha sido por tradición, desarrollada con base en métodos soportados por mediciones y determinaciones de características fisicoquímicas (Badii *et al.*, 2005). Sin embargo, no incluyen la respuesta de los organismos en distintas escalas, desde biomarcadores hasta comunidades y no son capaces de detectar los daños en las comunidades biológicas, así como de identificar toxicidad en mezclas complejas (Paustenbach y Galbraitt, 2006). Por estas razones es importante incorporar a los métodos de evaluación ambiental modelos biológicos que complementen los métodos tradicionales.

*Drosophila melanogaster* es un organismo que ha sido ampliamente requerido como modelo biológico en muchas áreas de las ciencias naturales. La versatilidad de bioensayos y pruebas en las que se ha utilizado hacen de éste, un modelo ideal para realizar evaluación ambiental. Aunque ya se ha utilizado en estudios de evaluación ambiental; este tipo de exposición aérea, no ha sido estudiada de manera directa en el sitio de emisión sino a partir de muestras ambientales. Tampoco se ha llevado a cabo este tipo de evaluaciones con *Drosophila* dentro de un ambiente laboral, por ello se realizó el presente estudio para probar la siguiente hipótesis:



### **3. HIPÓTESIS.**

*Drosophila melanogaster* es capaz de generar una respuesta diferencial a concentraciones fluctuantes de xenobióticos dentro de un ambiente laboral mediante biomarcadores como el índice de supervivencia y la prueba de mutación y recombinación somática.

## 4. OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la respuesta de *Drosophila melanogaster* como biomonitor en un ambiente laboral con niveles de contaminación fluctuantes.

### 4.1 Objetivos Particulares

1. Obtener información de la capacidad de respuesta del Índice de Supervivencia de *D. melanogaster* como biomarcador para discriminar ambientes laborales con niveles fluctuantes de contaminación.
2. Evaluar la respuesta de la prueba de mutación y recombinación somática (*SMART*) de *Drosophila melanogaster* como biomarcador para discriminar ambientes laborales con niveles de contaminación fluctuantes.
3. Determinar si existen diferencias en la respuesta a xenobióticos contenidos en una mezcla compleja, tanto en moscas silvestres, libres de inversiones (*flr3/mwh*) como en moscas portadoras de balanceador (*TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e*).

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS.

### 5.1 Trabajo de laboratorio

La línea *Canton-S* es una línea silvestre de *Drosophila melanogaster*, los ojos de estas moscas son rojos, las alas rectas, redondeadas y sobresalen en un tercio la longitud del cuerpo. Estas moscas se utilizaron como testigo de línea, ya que no poseen alteraciones en su constitución genética (marcadores fenotípicos o cromosomas con balanceadores) (Espinoza, 2007). A partir de cultivos maduros de la línea *Canton-S* se seleccionaron hembras vírgenes recién emergidas, identificándolas según Ramos *et al.* (1993), las cuales fueron cruzadas con machos de la misma línea.

Para la cruce progenitora de la prueba *SMART*, se utilizaron dos líneas mutantes de *Drosophila melanogaster*: hembras vírgenes *flr<sup>3</sup>/In(3LR)TM3, Bd<sup>S</sup>* y machos *mwh, e* (Muñoz, 1997). Esta es una cruce recíproca de la cruce estándar generalmente usada siguiendo el método empleado por Graf *et al.* (1984). La razón de elegir hembras *flr<sup>3</sup>/TM3, Bd<sup>S</sup>* fue que, bajo condiciones de laboratorio, son más fértiles que las hembras *mwh*; además, es más fácil obtener un mayor número de larvas para los tratamientos (Amrani *et al.*, 1999; García y Ramos, 2004; García-Niño y Ramos, 2006). Estas líneas fueron proporcionadas por el Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias.

Después de 48 h de haberse realizado las cruces (*Canton-S* y *SMART*), se sincronizó el cultivo para la obtención de las larvas; para ello, se transfirieron los progenitores a frascos con medio fresco enriquecido con levadura para coleccionar huevos, por un periodo de 8 h; después se regresó a los progenitores a los frascos originales (Herrera, 2006).

Se esperó a que los huevos se desarrollaran a larvas de tercer estadio ( $72 \pm 4h$ ) y por el método descrito por Nöthinger (1970), se extrajeron las larvas por gradiente de sacarosa. Se colocaron por grupos aproximados de 100 individuos en tubos homeopáticos de 15 mL, conteniendo 1g de medio instantáneo (Carolina Biological Supply) y 4.5 mL de agua destilada y se colocó con tapón de hule espuma.

Estos tubos homeopáticos fueron llevados a “Las Prensas de Ciencias” y se colocaron en sitios preestablecidos. Se consideró como testigo negativo al Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental, donde también fueron colocados tubos homeopáticos. Se esperó a que los adultos emergieran y posteriormente las moscas recobradas se fijaron en alcohol etílico al 70%.

## **5.2 Trabajo de campo**

La Coordinación de Servicios Editoriales “Prensas de Ciencias”, se encuentra instalada en el sótano del ala poniente del edificio principal de la Facultad de Ciencias, cumple con la función de cubrir las necesidades de edición y reproducción editorial de la Facultad a todos los niveles, ya sea en el área administrativa, docente, de investigación o de difusión de eventos, tanto científicos como culturales.

El taller cuenta con los departamentos de: diseño (2 personas); tipografía (2 personas); fotocopiado (4 personas); taller de reproducción (6 trabajadores y 2 jefes de taller); además de dos secretarías.

Para el servicio de fotocopiado se cuenta con 6 máquinas marca Minolta, tres de ellas en el local de la coordinación, y otras tres ubicadas en cada departamento. En el área de reproducción se dispone de la siguiente

maquinaria: una prensa offset marca Adast tamaño cuatro cuartas; una offset doble oficio marca Davidson; una impresora Multilitt tamaño oficio; una matricadora Brunning; una guillotina semiautomática marca polar de 70 cm. de luz; una compaginadora semiautomática para 20 postas; una empastadora manual y una prensa plana Chandler. Además se cuenta con un cuarto oscuro (Revelado), equipado con un fotofolio que permite procesar los negativos. Para el diseño y tipografía se cuenta con una computadora Pentium 100 y una 486, un escáner 4c. En el área de distribución y secretarial se cuenta con dos computadoras 486 (Perello, 2000).

Las necesidades de reproducción que se cubren en las diversas áreas de la Facultad, son:

- Edición de libros bajo el logotipo de “Prensas de Ciencias”.
- A nivel administrativo se reproduce toda la papelería utilizada en las diversas oficinas de la Facultad, ya sea utilizando el sistema de fotocopiado, cuando el número de ejemplares solicitado es mínimo, o en reproducción offset cuando la cantidad de copias así lo amerita, mensualmente se reproducen entre 25 y 30 mil hojas.
- Cada inicio de semestre se reproducen un promedio de 15 distintos “paquetes didácticos” que son materiales preparados por los maestros para utilización de sus alumnos durante el curso.
- El departamento de diseño se encarga de crear los originales de carteles, invitaciones, programas de mano, diplomas, portadas de libros y folletos, etc., que después son reproducidos en las diferentes máquinas impresoras del taller de reproducción, dependiendo del tipo, cantidad y tamaño del trabajo. Mensualmente se reproducen entre 16–20 carteles de diferentes tamaños y número de tintas.
- Se da apoyo a las coordinaciones departamentales y a la administración central con la reproducción, entre otros materiales, de: 25 mil folletos anuales para ser repartidos en la Feria de Orientación Vocacional, entre otras cosas (Perello, comunicación personal).

A partir de una visita preliminar a la litográfica “Las Prensas de Ciencias” para evaluar la respuesta de *D. melanogaster* se seleccionaron dentro de un espacio laboral 11 sitios con diferentes condiciones ambientales. Estos sitios fueron: la bodega, el área de diseño, la oficina, el área de fotocopiado, la recepción, el almacén, el área de revelado y cuatro sitios dentro del área de reproducción (Figura 9).

Estas evaluaciones se realizaron en las siguientes fechas: la primera del 22 de febrero al 28 de febrero del 2006, la segunda del 22 de agosto al 01 de septiembre del 2006 y la tercera del 30 de octubre al 06 de noviembre del 2006. Estos tiempos corresponden a las fechas iniciales del semestre; mismos que en los cuales el personal del taller ha regresado a sus labores y la producción litográfica se incrementa por la demanda académica y estudiantil.

Además, partiendo del hecho, de que el área de reproducción es el sitio donde hay una mayor emisión de xenobióticos en forma gaseosa o como partículas, se estableció que existía un gradiente en la presencia de estos compuestos. Siendo mayor la concentración en los lugares cercanos al área de reproducción y mucho menor en los lugares más alejados. A su vez, fueron consideradas las fuentes de ventilación y escape de los xenobióticos en el establecimiento de este gradiente, mismo que se puede observar en el orden (ascendente) en el que están presentados cada uno de los sitios en las tablas y figuras correspondientes.

Los tubos conteniendo las larvas de  $72 \pm 4$ h fueron colocados en cada uno de los sitios dentro del taller, tanto de la línea silvestre *Canton-S* como de la cruce *SMART* (2 tubos/línea/evaluación). Dejándose allí, hasta que alcanzaron su desarrollo en adultos.

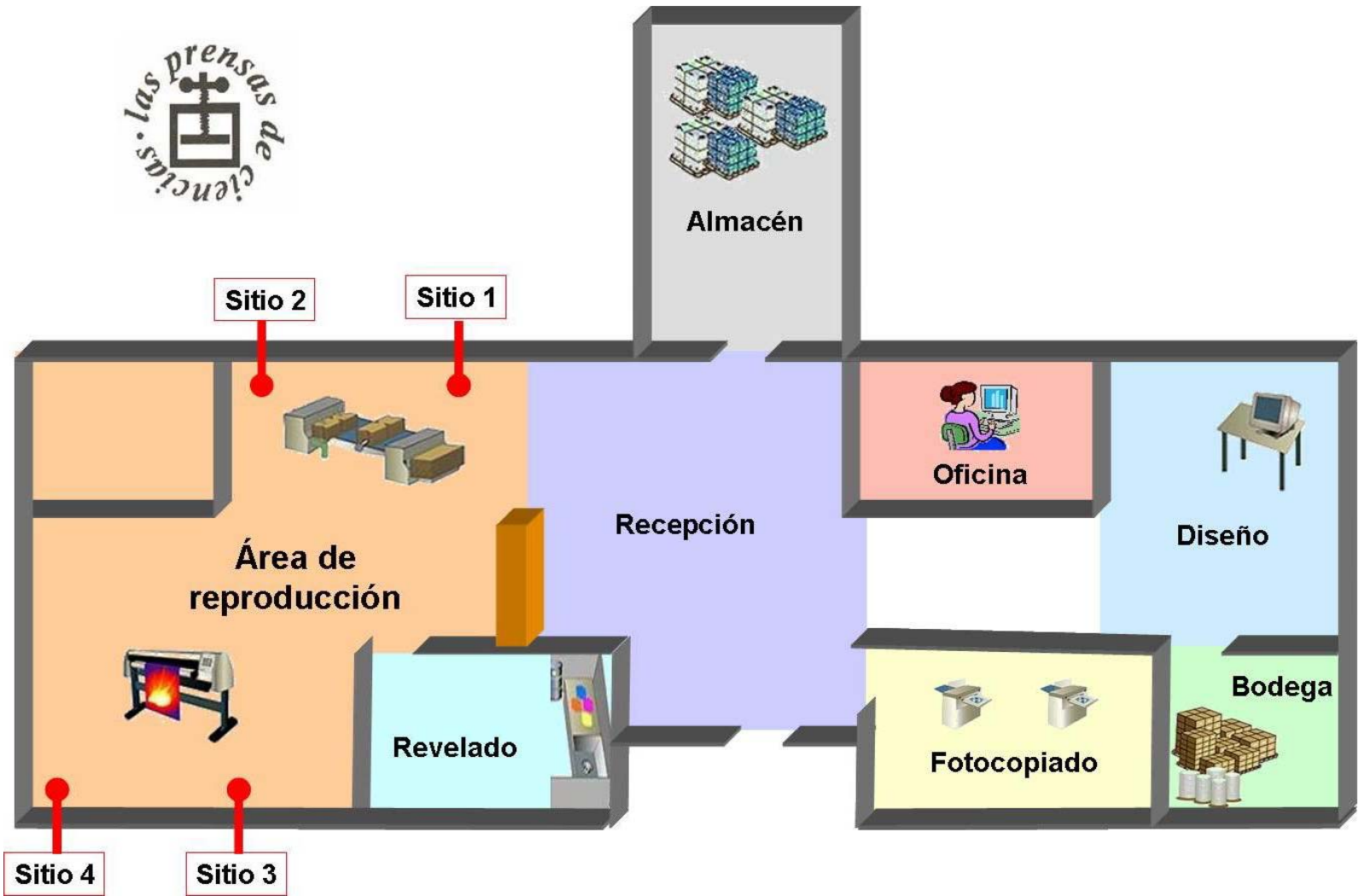


Figura 9. Sitios de evaluación dentro de "Las Prensas de Ciencias".

### 5.3 Análisis de sobrevivencia

Para cada uno de los tres experimentos, se contó el número de hembras y machos de la línea *Canton-S* y la cruce *SMART*. Las moscas de la cruce *SMART* se cuantificaron también por fenotipo: libres de balanceador (*flr3/mwh*) y portadoras (*TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e*). Esto se realizó por cada tubo recuperado de las evaluaciones realizadas. Utilizando la fórmula reportada por Arellano (2002) y Espinoza (2007), se calculó el Índice de Sobrevivencia (IS) por tubo, los valores obtenidos de cada tubo se promediaron y se obtuvo su error estándar (EE); para la línea silvestre, la cruce y por fenotipo de la cruce *SMART*.

$$I.S. = \frac{\sum_{i=1}^n \text{experimental}}{\sum_{i=1}^n \text{control}}$$

**Fórmula para calcular el índice de sobrevivencia (Arellano, 2002).**

A partir del IS de los tres experimentos se obtiene un valor único promedio para cada sitio evaluado, con su respectivo error estándar. Finalmente; el IS promedio obtenido para cada tipo de mosca, fue comparado con la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar si existen diferencias significativas entre los grupos experimentales y el grupo testigo, seguida por el método de comparación múltiple de Tukey, en caso de arrojar diferencias significativas. El análisis estadístico se realizó empleando el programa estadístico GraphPad Prism 4.0 para Windows (2003).

### Índice Sexual

Es un biomarcador de susceptibilidad que parte del análisis del IS para estimar la proporción de machos y hembras recuperados en el experimento, por tubo y referido a su testigo, reflejando la sensibilidad que un sexo en particular pueda presentar al ser expuesto a un agente tóxico.



Los ISx de los grupos experimentales y el grupo testigo se compararon como se indicó para el IS.

#### **5.4 Análisis del efecto genotóxico**

A partir de las moscas recobradas en los tratamientos, se evaluó la capacidad de respuesta de *Drosophila melanogaster* a posibles agentes genotóxicos en un ambiente fluctuante dentro del taller. Para ello, se disectan las alas con ayuda de pinzas de relojero, colocándose por pares en portaobjetos con solución Fauré, como reporta Graf *et al.* (1984). Se prepararon 2 laminillas por sitio con las alas de 20 hembras y 20 machos cada una, a partir de moscas tanto libres, como portadoras de balanceador (Arellano, 2002). Se examinan las preparaciones en el microscopio óptico a un aumento de 400X, registrando el número y tipo de manchas, así como sector del ala en el que se observaron.

Las manchas se clasifican en: simples chicas (1 a 2 células), simples grandes (>2 células) o gemelas (si presentan los dos marcadores mutantes *flr*<sup>3</sup> y *mwh* formando parte de la mancha). Esta clasificación es biológicamente significativa (Frei y Würzler, 1996; Kaya *et al.*, 1999). Cuando se contrasta la frecuencia de manchas totales presentes en las moscas libres de balanceador respecto a la encontrada en moscas portadoras de balanceador es posible conocer la proporción de manchas inducidas por recombinación, debido a las propiedades del cromosoma balanceador que contiene las múltiples inversiones en casi todo el cromosoma y cuya presencia evita recobrar eventos producidos por recombinación (Espinoza, 2007).

## 5.5 Análisis de la prueba SMART

La comparación de las frecuencias de manchas obtenidas se basa en la contrastación de dos hipótesis: la hipótesis nula ( $H_0$ ) señala que no existen diferencias significativas entre la frecuencia de mutación de las series testigo y las expuestas o tratadas. La hipótesis alternativa ( $H_a$ ) postula que en las series tratadas hay un incremento estadístico igual a  $m$  veces la frecuencia basal. Se utiliza  $m=2$  para la frecuencia de manchas simples chicas y manchas totales y  $m=5$  para la frecuencia de manchas simples grandes y manchas gemelas porque la frecuencia de manchas para las primeras es mucho mayor que para las segundas (Graf *et al.*, 1984; Frei y Würigler, 1988).

De esta manera:

Si no se rechaza  $H_0$  y se rechaza  $H_a$ , el resultado es negativo (-).

Si se rechaza  $H_0$  y no se rechaza  $H_a$ , el resultado es positivo (+).

Si las dos hipótesis se rechazan, el resultado es débil positivo (d+).

Si ambas no se rechazan, el resultado es indeterminado (i).

El análisis cualitativo de la distribución del tamaño de mancha estima el número de divisiones celulares que se requeriría para producir una mancha del tamaño recobrado y, en consecuencia, estima el tiempo en que se originó la mancha durante el desarrollo de la mosca (en ausencia de retraso o muerte celular). Este análisis permite descartar las respuestas negativas falsas, ya que la ausencia de efecto no debe interferir con el patrón de distribución del tamaño de la mancha que se presenta en el lote testigo (Arellano, 2002).

El número de manchas por mosca es una estimación de la susceptibilidad que caracteriza a los individuos expuestos. En organismos no tratados la presencia de manchas en las alas es un evento raro, pero al exponer a una población de larvas a algún agente genotóxico, algunas moscas no presentarán manchas en sus alas, mientras que otras muestran una o incluso un número elevado de

manchas. El análisis estadístico se realiza por la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con la que se compara la dispersión en la distribución del número de manchas por mosca a partir de las series experimentales y de la testigo. La prueba de Kruskal-Wallis aplicada a la dispersión poblacional contribuye a la toma de decisiones sobre la genotoxicidad de los compuestos evaluados en *SMART* (Graf *et al.*, 1984; Ramos *et al.*, 1996; Martínez, 1999).

Para la prueba de mutación, se determinó la existencia de diferencias significativas entre las frecuencias de manchas obtenidas en los tratamientos y el lote testigo utilizando el procedimiento de decisión múltiple de Frei y Würzler (1988) y el programa de cómputo *SMART* donde se compara mediante la prueba no paramétrica  $\chi^2$  (Graf *et al.*, 1984; Würzler *et al.*, 1985).

En la determinación de correlación entre el IS y la frecuencia de manchas obtenida en la Prueba de Mutación y Recombinación Somática, se empleó el método de correlación simple de Pearson (Daniel, 2007).

## 6. RESULTADOS.

### 6.1 Índice de Supervivencia (IS)

El valor promedio del Índice de Supervivencia (IS) obtenido de moscas *Canton-S*, *flr3/mwh* (libres de balanceador) y *TM3*, *Bd<sup>S</sup>/mwh*, *e* (portadoras de balanceador), expuestas en los diferentes sitios dentro de Las Prensas de Ciencias (Tabla 8); al compararlo mediante ANOVA de dos vías, mostró que existen diferencias significativas entre las líneas de moscas ( $p < 0.05$ ), pero no entre los valores del IS entre los sitios evaluados y el testigo (Tabla 9).

Para conocer en cuales líneas de moscas se encontraron las diferencias del IS, se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey y se encontró que las líneas *Canton-S* y la línea libre de balanceador no eran significativamente diferentes entre sí; a diferencia de la línea de moscas portadoras de balanceador que resultó ser estadísticamente diferente, con relación a las primeras ( $p < 0.05$ ) (Tabla 10).

Por la relación que se encontró en los índices de supervivencia entre los diferentes sitios (Figura 9), se formaron los siguientes grupos:

- a) El primer grupo se formó con los sitios: bodega, fotocopiado, almacén, revelado y dentro del área de reproducción: sitio 2. En estos, la supervivencia promedio de las moscas *Canton-S* fue mayor que la del testigo; las moscas *flr3/mwh* presentan mucha variación que se reflejó en errores estándar muy amplios; y la supervivencia promedio de las moscas *TM3*, *Bd<sup>S</sup>/mwh*, *e* fue menor que en el testigo.

- b) El segundo grupo lo conforman: diseño y la oficina. Estos fueron los únicos sitios donde el índice de sobrevivencia promedio fue menor que el del testigo para la línea *Canton-S*.
- c) El tercer grupo fue compuesto por los sitios: recepción y dentro del área de reproducción: sitios 3 y 4. En estos sitios se observó la menor variación de respuesta.

**Tabla 8. Índice de sobrevivencia de moscas emergidas de la exposición en “Las Prensas de Ciencias” (promedio  $\pm$  error estándar).**

	<i>Canton-S</i>	<i>flr3/mwh</i>	<i>TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh,e*</i>
Testigo	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
Bodega	1.22 $\pm$ 0.25	1.46 $\pm$ 0.40	0.95 $\pm$ 0.15
Diseño	0.87 $\pm$ 0.11	1.13 $\pm$ 0.20	1.09 $\pm$ 0.30
Oficina	0.66 $\pm$ 0.05	1.23 $\pm$ 0.43	1.05 $\pm$ 0.19
Fotocopiado	1.29 $\pm$ 0.13	1.30 $\pm$ 0.50	0.81 $\pm$ 0.18
Almacén	1.49 $\pm$ 0.34	1.19 $\pm$ 0.38	0.95 $\pm$ 0.29
Recepción	1.29 $\pm$ 0.19	1.12 $\pm$ 0.07	0.94 $\pm$ 0.12
Revelado	1.31 $\pm$ 0.24	1.38 $\pm$ 0.40	0.91 $\pm$ 0.09
Sitio 1	1.09 $\pm$ 0.22	1.25 $\pm$ 0.36	1.09 $\pm$ 0.13
Sitio 2	1.33 $\pm$ 0.29	1.58 $\pm$ 0.48	1.00 $\pm$ 0.05
Sitio 3	1.32 $\pm$ 0.11	1.39 $\pm$ 0.14	1.09 $\pm$ 0.07
Sitio 4	1.26 $\pm$ 0.21	1.08 $\pm$ 0.07	0.71 $\pm$ 0.08

\* ANOVA dos vías ( $p < 0.01$ )

**Tabla 9. Análisis de Varianza dos vías para los IS en cada sitio.**

Fuente de Variación	Media cuadrada	F	p
Entre líneas	0.275	9.16	$p < 0.01$
Entre sitios	0.035	1.16	$p > 0.05$

**Tabla 10. Prueba de Tukey de grupos homogéneos para el IS de las líneas evaluadas en “Las Prensas de Ciencias”.**

Línea vs Línea	Diferencia en los promedios	p	
<i>Canton-S</i>	<i>flr3/mwh</i>	0.081	$p > 0.05$
	<i>TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e</i>	0.211	$p < 0.05$
<i>flr3/mwh</i>	<i>TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e</i>	0.293	$p < 0.01$

## 6.2 Índice Sexual (ISx)

El Índice Sexual (ISx) promedio (Tabla 11), mostró diferencias significativas (ANOVA dos vías), entre las líneas evaluadas; sin embargo, no existieron diferencias entre los sitios de evaluación (Tabla 12). Además, la proporción entre machos y hembras se mantuvo alrededor del 50%. Como caso exclusivo, se obtuvo que para moscas *Canton-S*, en el sitio 1 del área de reproducción, la proporción de machos fue mayor (Figura 11).

Utilizando la prueba de comparación múltiple de Tukey se identificó que el índice sexual promedio de las moscas *Canton-S* diferían significativamente de las moscas de la cruce *SMART*; libres y portadoras de balanceador (Tabla 13).

**Tabla 11. Índice Sexual (machos), de moscas emergidas de la exposición en “Las Prensas de Ciencias” (promedio  $\pm$  error estándar).**

	<i>Canton-S</i>	<i>flr3/mwh</i>	<i>TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh,e</i>
Testigo	0.53 $\pm$ 0.03	0.41 $\pm$ 0.09	0.47 $\pm$ 0.03
Bodega	0.57 $\pm$ 0.00	0.57 $\pm$ 0.04	0.47 $\pm$ 0.02
Diseño	0.55 $\pm$ 0.09	0.45 $\pm$ 0.03	0.49 $\pm$ 0.03
Oficina	0.58 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.05	0.50 $\pm$ 0.06
Fotocopiado	0.51 $\pm$ 0.01	0.42 $\pm$ 0.02	0.50 $\pm$ 0.06
Almacén	0.58 $\pm$ 0.08	0.48 $\pm$ 0.06	0.45 $\pm$ 0.07
Recepción	0.46 $\pm$ 0.05	0.43 $\pm$ 0.06	0.52 $\pm$ 0.02
Revelado	0.51 $\pm$ 0.01	0.40 $\pm$ 0.03	0.42 $\pm$ 0.08
Sitio 1	0.66 $\pm$ 0.13	0.42 $\pm$ 0.05	0.52 $\pm$ 0.05
Sitio 2	0.47 $\pm$ 0.03	0.53 $\pm$ 0.03	0.51 $\pm$ 0.05
Sitio 3	0.54 $\pm$ 0.02	0.54 $\pm$ 0.05	0.56 $\pm$ 0.06
Sitio 4	0.55 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.02

\* ANOVA dos vías ( $p < 0.01$ )

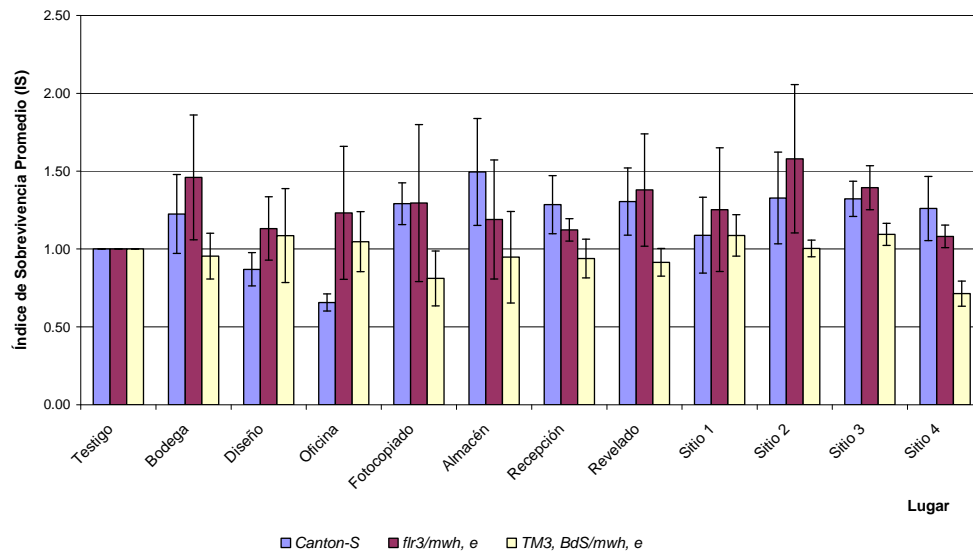
**Tabla 12. Análisis de Varianza dos vías para los ISx en cada sitio.**

Fuente de Variación	Media cuadrada	F	p
Entre líneas	0.0161	6.75	$p < 0.01$
Entre sitios	0.0029	1.25	$p > 0.05$

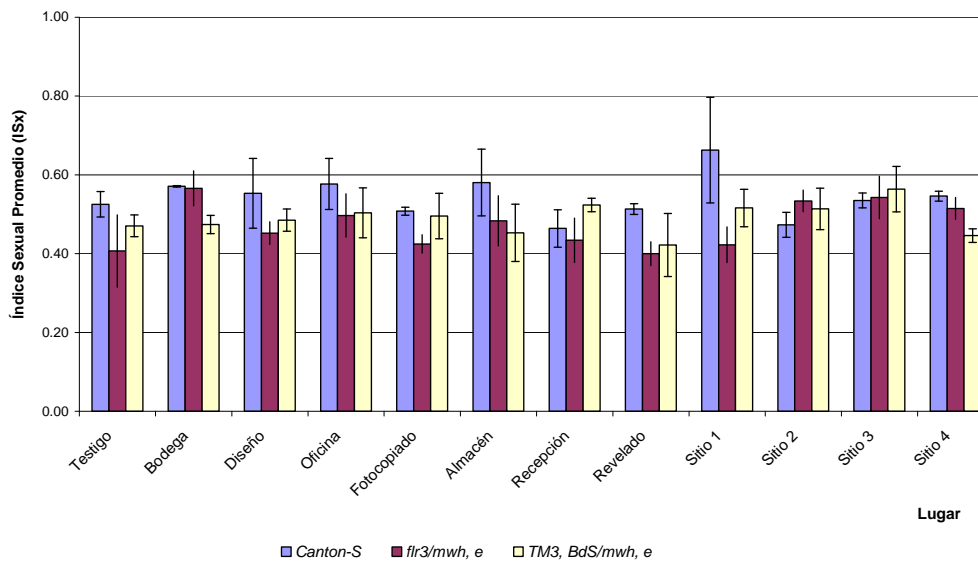
**Tabla 13. Prueba de Tukey de grupos homogéneos para el ISx de las líneas evaluadas en “Las Prensas de Ciencias”.**

Línea vs Línea	Diferencia en los promedios	p
<i>Canton-S</i> vs <i>flr3/mwh</i>	0.07	p<0.01
<i>Canton-S</i> vs <i>TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e</i>	0.054	p<0.05
<i>flr3/mwh</i> vs <i>TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e</i>	0.015	p>0.05

**Figura 10. Índice de sobrevivencia de moscas emergidas de la exposición en “Las Prensas de Ciencias”.**



**Figura 11. Índice Sexual de moscas emergidas de la exposición en “Las Prensas de Ciencias”.**



### 6.3 Prueba de Mutación y Recombinación Somática (SMART)

Los resultados del análisis de la prueba SMART obtenidos para las moscas *flr3/mwh* y *TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e* se muestran en las tablas 14 y 15, respectivamente. La categoría de manchas gemelas no se presenta en las tablas y gráficas; ya que no se encontró este tipo de manchas en las moscas libres de balanceador y no se pueden producir en las portadoras.

**Tabla 14. Frecuencia de manchas chicas, grandes y totales obtenido de la exposición en “Las Prensas de Ciencias” para moscas *flr3/mwh*.**

manchas por ala (número de manchas) diagnóstico estadístico					
	número de alas	chicas (1-2 cél.) m=2	grandes (>2 cél.) m=5	Totales m=2	Manchas con clonas ( <i>mwh</i> )
Testigo	80	0.30 (24)	0.03 (2)	0.32 (26)	26
Bodega	88	0.26 (23)-	0.00 (0)-	0.26 (23)-	23
Diseño	88	<b>0.49 (43)+</b>	0.07 (6)i	<b>0.56 (49)+</b>	49
Oficina	88	0.36 (32)-	0.03 (3)i	0.40 (35)-	35
Fotocopiado	88	0.36 (32)-	0.02 (2)i	0.39 (34)-	34
Almacén	88	0.40 (35)i	0.02 (2)i	0.42 (37)i	37
Recepción	88	0.28 (25)-	0.08 (7)i	0.36 (32)-	30
Revelado	88	0.32 (28)-	0.01 (1)i	0.33 (29)-	29
Sitio 1	88	0.42 (37)i	0.06 (5)i	0.48 (42)i	42
Sitio 2	88	<b>0.52 (46)+</b>	0.05 (4)i	<b>0.57 (50)+</b>	50
Sitio 3	88	0.39 (34)i	0.03 (3)i	0.42 (37)i	37
Sitio 4	88	0.33 (29)-	0.06 (5)i	0.39 (34)-	34

( + ) existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), ( - ) no existen diferencias significativas, ( i ) la frecuencia de mutación entre el testigo y las expuestas está indeterminada

En el caso de las moscas *flr3/mwh*, el efecto se localizó principalmente en la frecuencia de manchas chicas y totales ( $m=2$ ), siendo esto significativo en las moscas expuestas en diseño y dentro del área de reproducción: sitio 2. Por su parte; para las moscas *TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e*, no se encontró que la frecuencia de manchas fuese significativa para ninguna de las categorías de tamaño de mancha.



**Tabla 15. Frecuencia de manchas chicas, grandes y totales obtenido de la exposición en “Las Prensas de Ciencias” para moscas *TM3*, *Bd<sup>S</sup>/mwh*, e**

manchas por ala (número de manchas) diagnóstico estadístico					
	número de alas	chicas (1-2 cél.) m=2	grandes (>2 cél.) m=5	Totales m=2	Manchas con clonas ( <i>mwh</i> )
Testigo	88	0.37 (33)	0.01 (1)	0.39 (34)	34
Bodega	88	0.48 (42)-	0.01 (1)i	0.49 (43)-	43
Diseño	86	0.43 (37)-	0.06 (5)i	0.49 (42)-	42
Oficina	88	0.44 (39)-	0.02 (2)i	0.47 (41)-	41
Fotocopiado	88	0.35 (31)-	0.00 (0)-	0.36 (32)-	32
Almacén	86	0.53 (46)i	0.01 (1)i	0.55 (47)i	47
Recepción	84	0.35 (29)-	0.00 (0)-	0.35 (29)-	29
Revelado	88	0.35 (31)-	0.02 (2)i	0.37 (33)-	33
Sitio 1	88	0.36 (32)-	0.00 (0)-	0.36 (32)-	32
Sitio 2	86	0.45 (39)-	0.00 (0)-	0.45 (39)-	39
Sitio 3	80	0.52 (42)i	0.04 (3)i	0.56 (45)i	45
Sitio 4	88	0.41 (36)-	0.01 (1)i	0.42 (37)-	37

( + ) existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), ( - ) no existen diferencias significativas, ( i ) la frecuencia de mutación entre el testigo y las expuestas está indeterminada

Es importante mencionar que para ambos tipos de moscas; tanto el almacén como el sitio 3 dentro del área de reproducción, se encuentran señalados como indeterminados.

Al analizar la distribución de células por mancha de las moscas expuestas en el área de estudio y las del lote testigo; las moscas *flr3/mwh* mostraron manchas formadas por más células (manchas grandes), que las moscas *TM3*, *Bd<sup>S</sup>/mwh*, e (Figuras 12 y 13). A este respecto; sobresalen los sitios: diseño, recepción y dentro del área de reproducción los sitios 1 y 2. Para moscas portadoras de balanceador, sólo en el sitio 3 dentro del área de reproducción se generaron manchas de 17-32 células, aunque la distribución del tamaño de mancha es discontinua.

Figura 12. Frecuencia de células por mancha en moscas (*flr3/mwh*), obtenido de la exposición en “Las Prensas de Ciencias”.

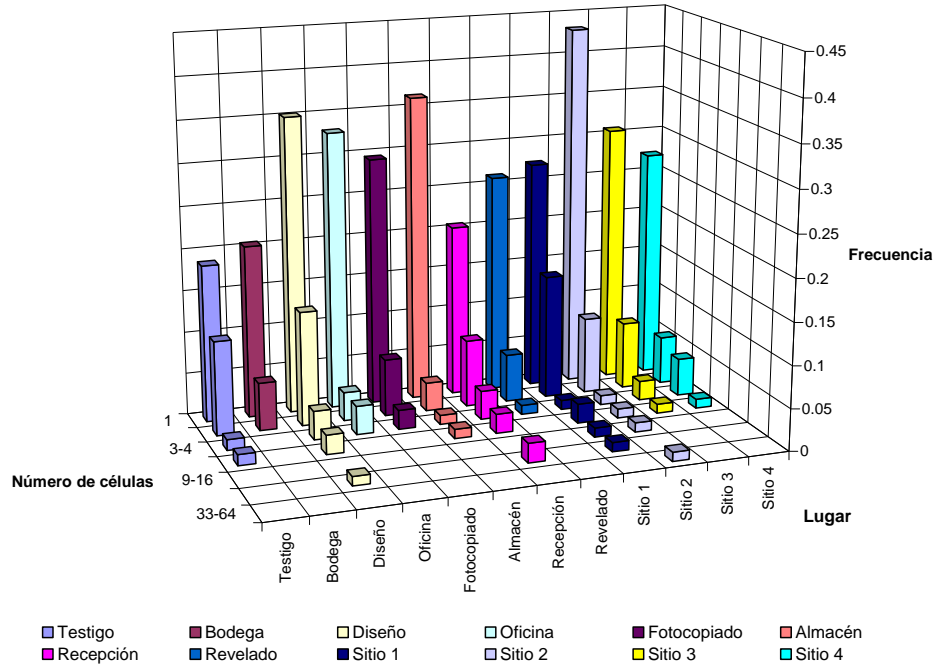
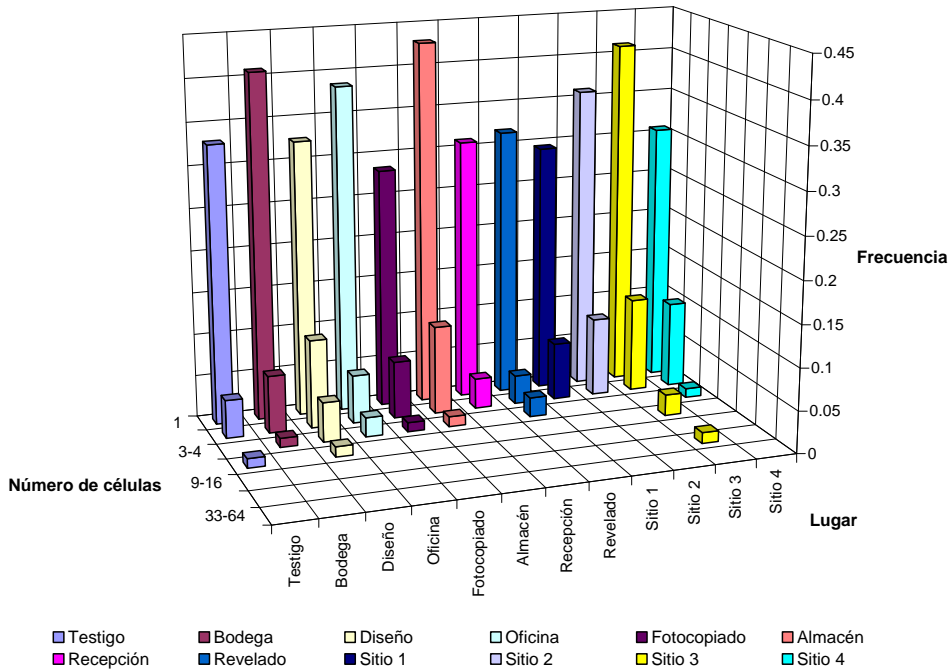


Figura 13. Frecuencia de células por mancha en moscas (*TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e*), obtenido de la exposición en “Las Prensas de Ciencias”.



Al comparar la distribución de manchas por mosca, en moscas libres de balanceador (Figura 14), se encontró que aproximadamente la mitad de las moscas recuperadas no tenían manchas, mientras que en la otra mitad, la mayoría presenta una mancha aunque el número de manchas por mosca se incrementa de manera gradual. En moscas portadoras del balanceador la distribución del número de manchas por mosca (Figura 15), se comporta de forma similar a las moscas libres de balanceador; sin embargo, en algunos sitios el número de moscas con una sola mancha fue mayor que el de moscas sin manchas. Además; en moscas libres de balanceador el número máximo de manchas por mosca recuperado fue de siete en el área de diseño. Mientras que en moscas portadoras el número máximo fue de seis manchas en la oficina y el sitio 3 (área de reproducción). Empleando la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para analizar la distribución de manchas por mosca se determinó que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos en los diferentes sitios de evaluación ( $p > 0.05$ ).

**Figura 14. Número de manchas por mosca (*flr3/mwh*), obtenido de la exposición en “Las Prensas de Ciencias”.**

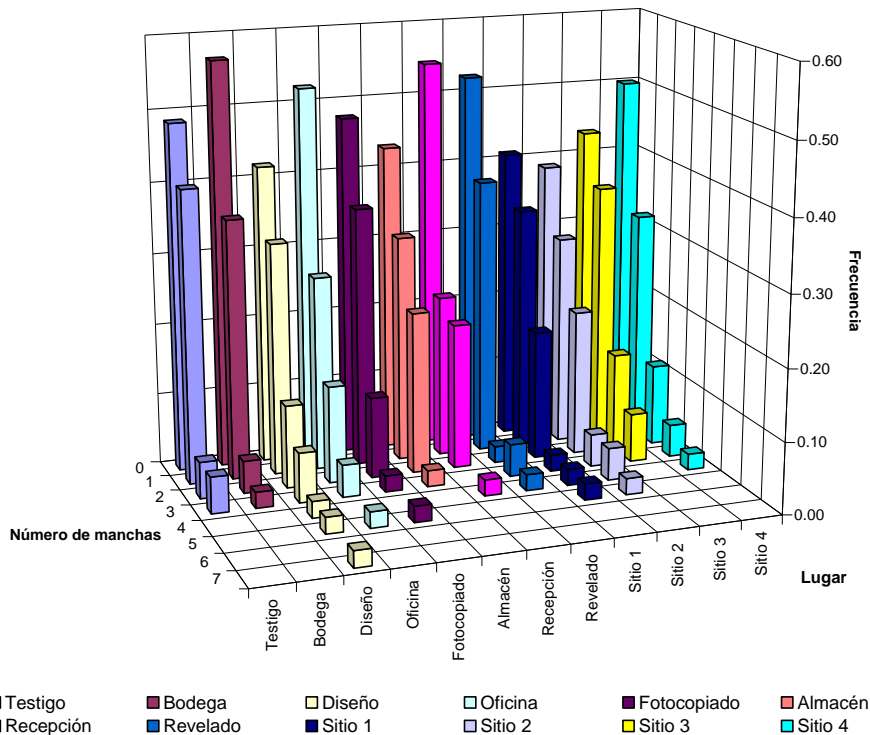
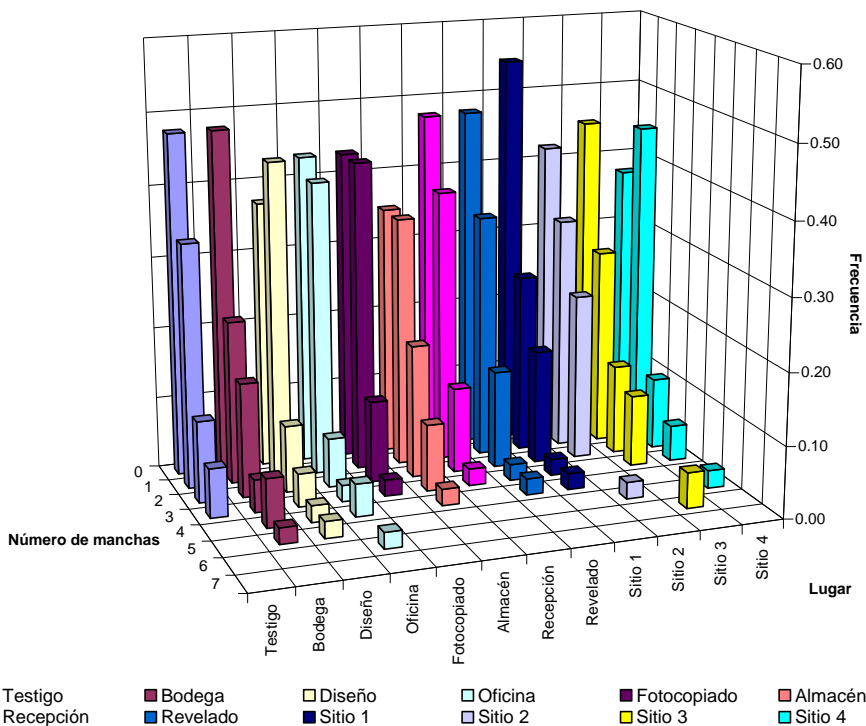


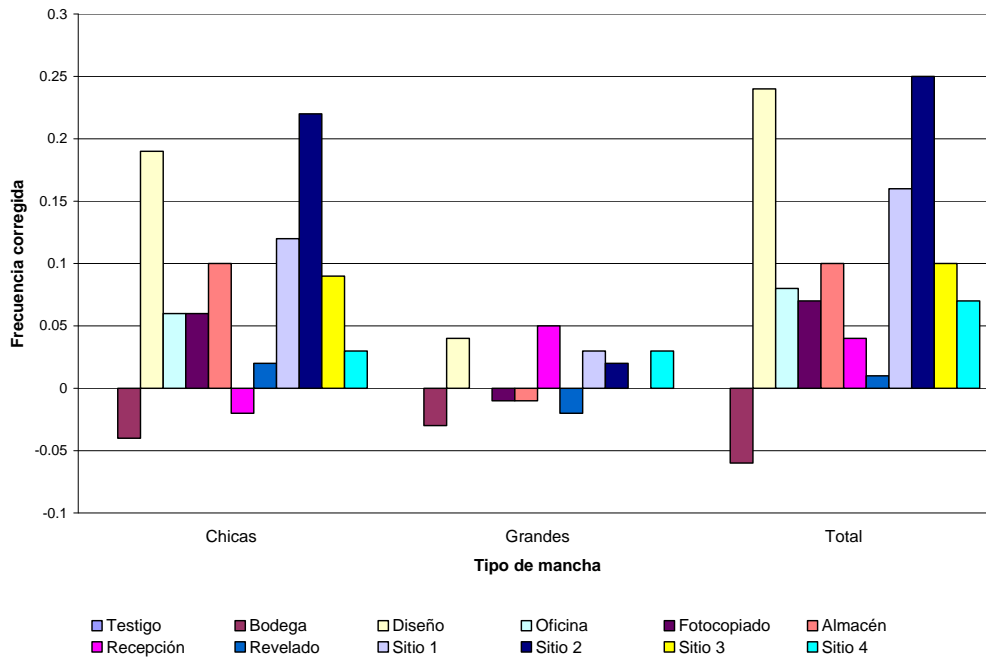
Figura 15. Número de manchas por mosca ( $TM3$ ,  $Bd^S/mwh$ , e), obtenido de la exposición en “Las Prensas de Ciencias”.



Del análisis de frecuencias corregidas; para moscas *flr3/mwh*, los sitios con frecuencias más altas de manchas chicas y totales fueron: diseño y el sitio 2 dentro del área de reproducción (Figura 16). Mientras que para moscas  $TM3$ ,  $Bd^S/mwh$ , e, los sitios con frecuencias más altas de manchas chicas y totales fueron el almacén y el sitio 3 del área de reproducción (Figura 17).

La correlación de Pearson mostró que no existía relación entre el índice de sobrevivencia y la frecuencia de manchas en ambos tipos de progenie de la craza *SMART* (Figuras 18 y 19).

**Figura 16. Frecuencia corregida del tipo de mancha en moscas (*flr3/mwh*), obtenida de la exposición en “Las Prensas de Ciencias”.**



**Figura 17. Frecuencia corregida del tipo de mancha en moscas (*TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e*), obtenida de la exposición en “Las Prensas de Ciencias”.**

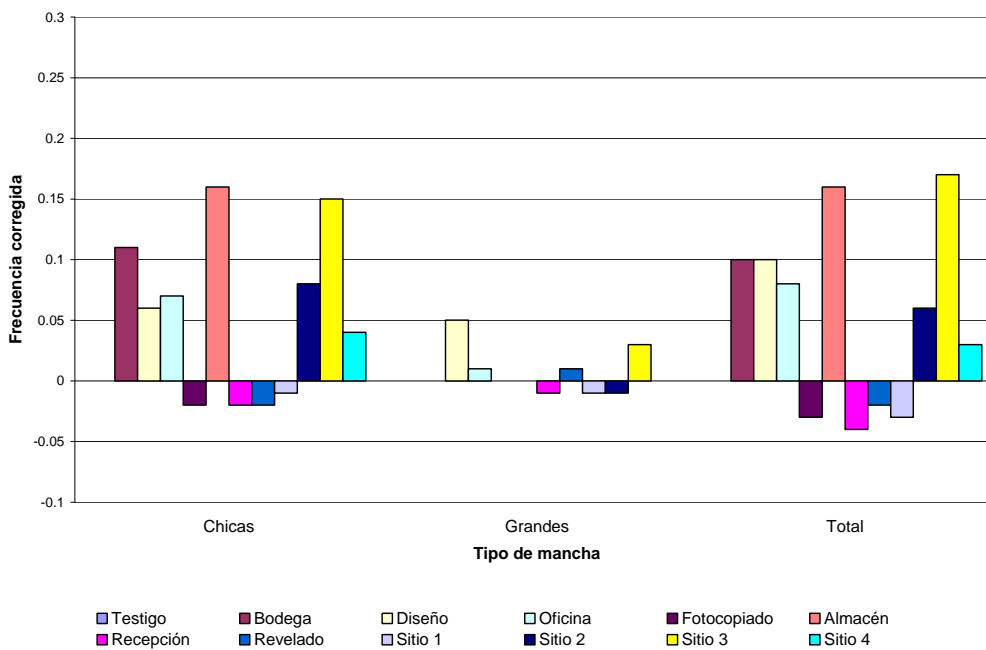


Figura 18. Análisis de correlación de Pearson en moscas (*flr3/mwh*), obtenido de la exposición en “Las Prensas de Ciencias” ( $r=0.1478$ ;  $p>0.05$ ).

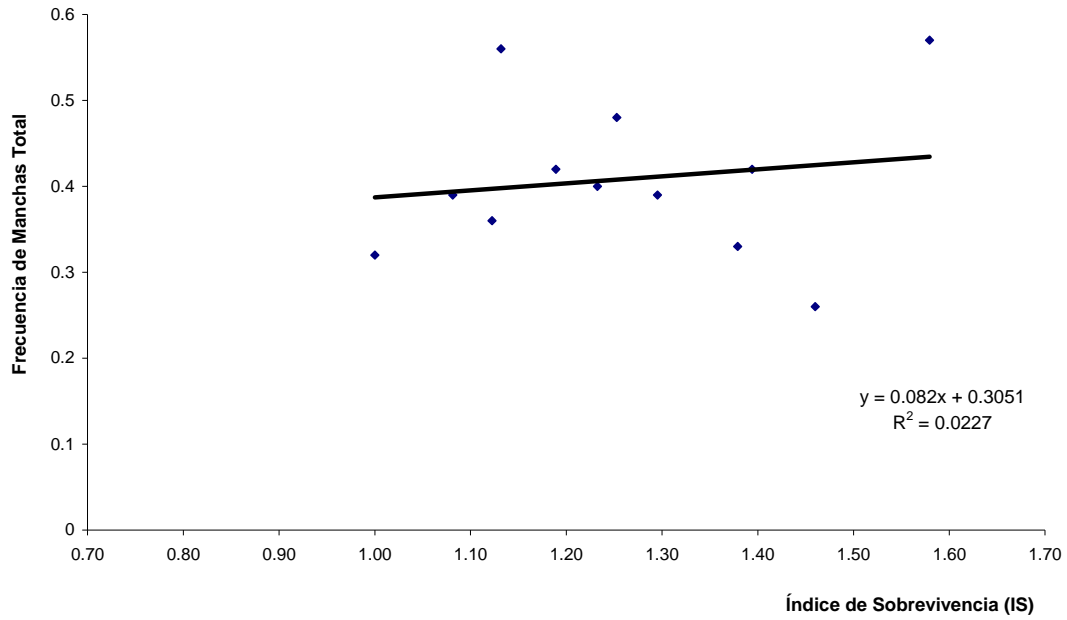
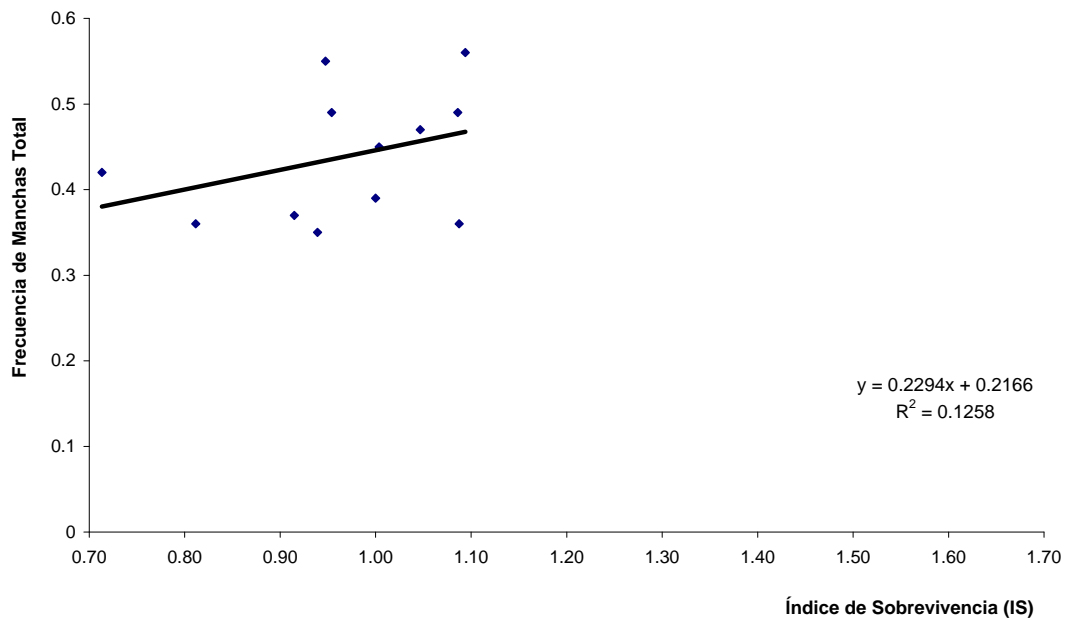


Figura 19. Análisis de correlación de Pearson en moscas (*TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e*), obtenido de la exposición en “Las Prensas de Ciencias” ( $r=0.3514$ ;  $p>0.05$ ).



#### 6.4 Análisis de resultados por sitio de exposición

El total de las moscas *Canton-S*, libres de balanceador (*flr3/mwh*) y portadoras de balanceador (*TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e*), recuperadas en el sitio testigo se consideró el 100% y contra éste se comparó el número de moscas de cada tipo recuperadas en los sitios experimentales. El índice sexual en las moscas testigo *Canton-S* fue  $0.57 \pm 0.03$  machos. De la misma manera, en la progenie de la cruce *SMART flr3/mwh* del sitio testigo el índice sexual fue  $0.41 \pm 0.09$  machos, generándose principalmente manchas chicas de 1 ó 2 células en las alas del 50% de las moscas recuperadas. Por su parte, en las moscas adultas *TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e*, el índice sexual fue  $0.47 \pm 0.03$  machos y en las alas se observaron manchas de 1 célula en aproximadamente el 50 % de las moscas. Al comparar los resultados de los biomarcadores evaluados en las tres líneas de moscas en el sitio testigo, con la respuesta en los sitios experimentales se encontró que existían variaciones en los diferentes sitios evaluados.

La bodega es el sitio más alejado del área de reproducción; en este lugar se obtuvo para moscas *Canton-S* una sobrevivencia 22% mayor que el testigo y un índice sexual de 0.57. El índice de sobrevivencia de moscas libres de balanceador fue 46% mayor que el testigo y el índice sexual fue de  $0.57 \pm 0.04$ , generándose menos manchas y de menor tamaño que en las moscas del testigo. Por su parte; las moscas portadoras de inversiones tuvieron una sobrevivencia 5% menor a las testigo y su índice sexual fue de  $0.47 \pm 0.02$ , favoreciéndose la formación de hasta cinco manchas de una célula por mosca. A pesar de la lejanía, existen sustancias químicas presentes que fueron capaces de inducir daño genotóxico en las moscas portadoras de balanceador.

En el área de diseño, el índice de sobrevivencia para moscas de tipo silvestre fue 13% menor que el testigo y el índice sexual de  $0.55 \pm 0.09$ , mientras que, en moscas libres de balanceador la sobrevivencia fue 13% mayor que el testigo y su índice sexual de  $0.45 \pm 0.03$  formándose más manchas y de mayor

tamaño por mosca (32 células), que en las moscas del testigo. Este sitio fue positivo en la prueba de *SMART* por la alta frecuencia de manchas chicas. Por otro lado, las moscas portadoras tuvieron una sobrevivencia 9% mayor a las testigo con un índice sexual de  $0.49 \pm 0.03$ , generándose más manchas por mosca que en las moscas del testigo, en su mayoría de una célula. A partir de estos datos podemos sugerir que en este sitio se acumulan concentraciones altas de xenobióticos en el ambiente.

Las oficinas son pequeños cubículos que no están aislados de las emisiones liberadas en el área de reproducción, al no estar techadas. En este lugar el índice de sobrevivencia fue 34% menor en moscas *Canton-S* que en el testigo, con un índice sexual de  $0.58 \pm 0.06$ . En moscas *flr3/mwh* la sobrevivencia fue de 23% mayor que en el testigo y el índice sexual de  $0.5 \pm 0.05$ , produciendo una alta frecuencia de manchas de una célula. La sobrevivencia de moscas *TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh*, e fue 5% mayor que en el testigo y el índice sexual de  $0.5 \pm 0.06$ . Las manchas recobradas en estas moscas fueron principalmente de una célula en aproximadamente el 40% de estas moscas. De este modo, el efecto genotóxico fue mayor en las moscas portadoras de balanceador.

En el área de fotocopiado se obtuvo para moscas *Canton-S* una sobrevivencia 29% mayor que el testigo e índice sexual de  $0.51 \pm 0.01$ . El índice de sobrevivencia de moscas libres de balanceador fue 30% mayor que el testigo y el índice sexual fue de  $0.42 \pm 0.02$  generándose hasta seis manchas de una célula por mosca. Por su parte; las moscas portadoras tuvieron una sobrevivencia 19% menor a las testigo y su índice sexual fue de  $0.5 \pm 0.06$ , originándose manchas de una célula por mosca en una frecuencia alta. La exposición de las moscas en este sitio resultó ser genotóxica para ambos tipos de progenie de la crucea *SMART*.

En el almacén se guardan y protegen los materiales impresos ya acabados. Aquí, la sobrevivencia de moscas *Canton-S* fue 49% mayor que en testigo y su



índice sexual de  $0.58 \pm 0.08$ . En moscas libres de balanceador la sobrevivencia fue 19% mayor y el índice sexual  $0.48 \pm 0.06$ ; en éstas se generaron pocas manchas por mosca, la mayoría de las manchas fueron de una célula. En moscas portadoras de balanceador se obtuvieron más manchas de una célula por mosca en una frecuencia mayor a la del testigo, con sobrevivencia de los organismos 5% menor al testigo e índice sexual de  $0.45 \pm 0.07$ . Partiendo de estos resultados, se sugiere que las sustancias químicas de volatilidad baja que quedan impregnadas en los productos finales y progresivamente se volatilizan, ejercen efectos genotóxicos sobre los organismos.

La recepción es el sitio en donde se puede generar el recambio más importante de contaminantes entre el interior y el exterior de nuestra área de estudio. En este lugar, la sobrevivencia recuperada de moscas *Canton-S* fue 29% mayor al testigo y su índice sexual  $0.46 \pm 0.05$ . Las moscas libres de balanceador tuvieron una sobrevivencia 12% mayor al testigo e ISx  $0.43 \pm 0.06$ ; mientras que en las portadoras, la sobrevivencia fue 6% menor a las testigo y su ISx  $0.52 \pm 0.02$ . La distribución de manchas en libres y portadoras es claramente diferente, en las primeras se generan una o dos manchas grandes por mosca y en las segundas se tiene en su mayoría manchas de una sola célula por mosca. Con los resultados obtenidos, podemos señalar que el impacto de los genotóxicos fue principalmente sobre moscas libres de balanceador.

El área de revelado es un cuarto que se mantiene en oscuridad y el personal se auxilia de luz infrarroja para ver. La sobrevivencia de moscas silvestres fue 31% mayor a la recuperada en el testigo y su índice sexual de  $0.51 \pm 0.01$ . Por otro lado, la sobrevivencia de moscas libres fue 38% mayor a la del testigo y el índice sexual de  $0.4 \pm 0.03$ , formándose manchas grandes de hasta 32 células. En moscas portadoras, la sobrevivencia fue 9% menor que en el testigo y su índice sexual de  $0.42 \pm 0.08$ ; originándose una o dos manchas principalmente, de una célula. En este lugar la cantidad de disolventes empleados fue capaz de inducir estrés y daño genotóxico en nuestro modelo.

En el área de reproducción se establecieron cuatro sitios para evaluar la respuesta de *Drosophila*, este lugar es en donde se llevan a cabo la mayoría de los procedimientos involucrados en la pre-impresión, impresión y post-impresión y por lo tanto es el área en donde existe mayor liberación de xenobióticos y compuestos orgánicos volátiles (VOCs). También se debe señalar que es el único sitio dentro de la instalación que cuenta con extractor de aire, pero que sin embargo, no siempre está en funcionamiento. De manera general, el estrés y la genotoxicidad provocada por los contaminantes liberados dentro de esta área sobre el modelo *Drosophila melanogaster* fueron altos, tanto para moscas *Canton-S* como para las obtenidas de la cuza *SMART*.

En el sitio 1, la sobrevivencia de moscas *Canton-S* fue 9% mayor a las testigo y su ISx de  $0.66 \pm 0.13$ . Para moscas *flr3/mwh* la sobrevivencia fue de 25% mayor que en el testigo y el índice sexual de  $0.42 \pm 0.05$ , produciendo manchas grandes de hasta 32 células pero siendo mayor la frecuencia de manchas chicas. La sobrevivencia de moscas *TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh*, e fue 9% mayor a la del testigo y el ISx de  $0.52 \pm 0.05$ , formándose una o dos manchas de una célula por mosca.

En el sitio 2, la sobrevivencia fue 33% mayor a la del testigo y el ISx de  $0.47 \pm 0.03$  para moscas *Canton-S*. En moscas libres de balanceador, la sobrevivencia fue 58% mayor a la del testigo y el ISx de  $0.53 \pm 0.03$ , generándose manchas grandes de hasta 64 células y resultando positiva la frecuencia de manchas chicas en la prueba de *SMART*. La sobrevivencia de las moscas portadoras fue igual a la del testigo y el ISx de  $0.51 \pm 0.05$ , la formación de manchas fue también similar a la encontrada en el testigo, aunque el número de moscas sin manchas fue ligeramente mayor.

En el sitio 3, para moscas *Canton-S* la sobrevivencia fue 32% mayor que en el testigo con un ISx de  $0.54 \pm 0.02$ . En moscas libres de balanceador la

sobrevivencia fue 39% mayor que en el testigo y su ISx de  $0.54 \pm 0.05$ , el tamaño de manchas recuperado fue menor que en los dos sitios anteriores, así como el número de manchas por mosca. En cambio, en las moscas portadoras se encontró como caso exclusivo un incremento en el tamaño de mancha de hasta 32 células, así como en el número de manchas por mosca. La sobrevivencia fue 9% mayor al testigo y su índice sexual de  $0.56 \pm 0.06$ .

Por último, el sitio 4 que, por las actividades que en él se realizan, se planteó como el sitio más contaminado se recuperó una sobrevivencia 26% mayor que el testigo para moscas silvestres e índice sexual de  $0.55 \pm 0.01$ . Las moscas *flr3/mwh* tuvieron un índice de sobrevivencia 8% mayor que en el testigo y un índice sexual de  $0.52 \pm 0.03$ , produciéndose más manchas de una célula que el testigo. La sobrevivencia de moscas *TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh*, e fue 29% menor que la del testigo y su ISx de  $0.45 \pm 0.02$ , en estas moscas la distribución de manchas por mosca se invierte con respecto al testigo; es decir, la frecuencia de moscas con una mancha es mayor que aquella en las que no hay manchas, sin embargo, el tamaño de mancha recuperadas es similar a las encontradas en el testigo.

## 7. DISCUSIÓN.

El aire dentro de un ambiente laboral es muy complejo, en éste pueden coexistir varios gases junto con otros contaminantes y radiación. La complejidad inherente de esta mezcla compleja y los productos de las subsecuentes reacciones hace muy difícil estimar el riesgo genotóxico en el ambiente aéreo por mediciones tradicionales de contaminantes. En el presente estudio, se evaluó y comparó la respuesta de *Drosophila melanogaster* al ser expuesta a un ambiente laboral, basada en una estrategia aplicada para evaluar el potencial genotóxico del ambiente atmosférico dentro de “Las Prensas de Ciencias”.

Para ello, se utilizó el IS como un biomarcador de efecto, que de acuerdo a Ramos *et al.* (2006), puede ser un estimador de toxicidad. Este biomarcador ya ha sido empleado en la evaluación de compuestos químicos (García, 2006; Herrera, 2006; Espinoza, 2007), y de muestras ambientales (Arellano, 2002; Ramos *et al.*, 2000; Muñoz, 2007).

En este trabajo se utilizó como sitio testigo el Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental, porque es un lugar que no tiene relación con los procesos de impresión que se llevan a cabo en el taller, además de que no se utilizan compuestos químicos en grandes volúmenes y el sitio se encuentra alejado de los contaminantes que puedan estarse liberando de la litográfica. Las moscas silvestres *Canton-S* fueron empleadas como línea de referencia ya que no expresan mutaciones que pudieran interferir con la toxicidad del tratamiento y en consecuencia, puede separarse el efecto de la toxicidad del tratamiento de la posible interacción entre la toxicidad del tratamiento y el arreglo genético de las moscas utilizadas.

La sobrevivencia del testigo corresponde a la viabilidad huevo-adulto reportada por García y Ramos (2004) propia de cada línea de moscas ajustada al 100% y

contra éste se comparó el número de moscas de cada tipo recuperadas en los sitios experimentales. Así, tomando como referencia al testigo; aquellos sitios en los cuales el IS es menor, la pérdida de organismos se puede relacionar directamente con un efecto de toxicidad. Mientras que en sitios donde el IS es mayor que el del testigo, el efecto se ha asociado como una respuesta al estrés inducido por los xenobióticos, que son capaces de activar en las moscas mecanismos anti-estrés que favorecen la recuperación de una proporción de organismos mayor que en el testigo, por lo cual también es considerado un efecto tóxico.

El encontrar un efecto diferencial en el IS para las líneas evaluadas en los sitios de exposición, comparados con el testigo, es un indicativo de que en la mezcla compleja de aire dentro del taller, existen compuestos capaces de generar en las moscas *D. melanogaster* una respuesta al estrés provocado por a la toxicidad.

En este trabajo, la exposición de las moscas dentro del taller, modificó significativamente el IS de las moscas portadoras de balanceador ( $p < 0.05$ ), sin producir cambios significativos en el IS de moscas de tipo silvestre *Canton-S*, ni en moscas libres de cromosoma balanceador. Estas diferencias en el IS entre las líneas, puede ser consecuencia de la constitución genética de estas moscas; debido a que el cambio de posición de los genes en el cromosoma balanceador induce diferencias en la expresión y/o regulación de éstos, las cuales según el ambiente, podrían ser incluso benéficas (Klug y Cummings, 2000). Los resultados obtenidos del IS son congruentes con otros trabajos en donde se ha observado este efecto (Rivas, 1999; García, 2006; Espinoza, 2007).

Los resultados estadísticos del análisis de varianza, mostraron que no existen diferencias significativas en el IS ( $p > 0.05$ ), obtenido entre los diferentes sitios para las líneas de moscas en evaluación. Sin embargo, esto puede explicarse,

si consideramos los promedios y sus varianzas asociadas en cada sitio y los comparamos directamente con el testigo, encontrando que en cada sitio hay una respuesta diferencial como resultado de la exposición. Siendo el promedio de organismos recuperados mayor que en el testigo con varianzas muy grandes en algunos casos o con tendencia a ser similares al control con variaciones reducidas, en otros.

Frente a esta problemática, en la cual procesos estadísticos como el ANOVA no permiten establecer diferencias significativas entre los diferentes sitios de evaluación, Ramos y colaboradores (2006) señalan al respecto, que es necesario desarrollar herramientas estadísticas que exploren la dispersión de la respuesta de los organismos expuestos a genotóxicos, como un biomarcador alternativo en toxicología genética.

Herrera (2006) reportó que la exposición a concentraciones bajas de xenobióticos heterogeniza a la población, mientras que la exposición a concentraciones altas de xenobióticos la homogeniza. De esta manera, se asoció que en los sitios del primer grupo, donde el IS fue mayor al del testigo para *Canton-S*, menor para la línea portadora del balanceador y los errores estándar de las moscas libres de balanceador fueron más grandes, las concentraciones de xenobióticos presentes en el ambiente fueron relativamente bajas. Así, como resultado de las fluctuaciones, podría interpretarse que los organismos expuestos fueron capaces de activar mecanismos o vías metabólicas que les permitieran eliminar estos xenobióticos, favoreciendo mayor recuperación de organismos.

Las moscas *Canton-S* del segundo grupo fueron más susceptibles a los xenobióticos volátiles presentes en el área de diseño y en las oficinas. Por otra parte, en los sitios del tercer grupo se estima que las concentraciones de los xenobióticos fueron altas, al haberse obtenido valores promedio similares al testigo con variaciones reducidas. Además, esta característica en la que la

dispersión es reducida, se ha asociado con una selección de organismos cuyo metabolismo o información genética es similar, lo cual hace que se homogenice la población (Bickman *et al.*, 2000).

Otro biomarcador utilizado en este trabajo fue el ISx, mediante el cual se evalúa que la proporción de hembras y machos sea del 50% para cada sexo. Así, al obtener una proporción significativamente diferente, al exponer a las moscas en los diferentes sitios, este efecto es indicativo de que un sexo en particular está siendo susceptible a la acción de los xenobióticos en estado gaseoso o como partículas. Los resultados, analizados por ANOVA de dos vías, mostraron ser significativamente diferentes entre líneas, no así entre los sitios de evaluación. A este respecto, las moscas *Canton-S* fueron diferentes a las moscas de la progenie *SMART*.

El efecto genotóxico inducido por la exposición dentro de la litográfica, evaluado a través de la prueba *SMART*, resultó ser estadísticamente significativo en moscas libres del balanceador en los sitios: diseño y el sitio 2 dentro del área de reproducción. La diferencia entre la respuesta de moscas *flr3/mwh* y *TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh*, *e*, se puede relacionar con la capacidad de las primeras para reparar el daño generado por los xenobióticos presentes en este ambiente laboral, ya que las moscas que portan el cromosoma balanceador, no pueden reparar el daño genético por recombinación, de esta forma, las manchas observadas en las moscas portadoras de balanceador son inducidas exclusivamente por eventos genéticos que no incluyen a la recombinación.

El hecho de que para las moscas libres y portadoras de balanceador, se hayan encontrado resultados inconclusos para el almacén y el sitio 3 dentro del área de reproducción, es un indicativo de que en estos lugares puedan estar presentes compuestos capaces de generar un efecto genotóxico que no se ve reflejado como positivo en la prueba *SMART*, por las fluctuaciones en los niveles de estos compuestos dentro de estos sitios o por la baja concentración

de los mismos. Otro punto importante de señalar, es que en los sitios donde se obtuvo un resultado negativo en la prueba SMART, no significa que los compuestos químicos presentes, estén libres de ejercer un daño genotóxico; más bien, debe considerarse que la concentración de los xenobióticos debida a las fluctuaciones se ve modificada a través del tiempo y que una exposición constante puede generar algún tipo de daño a los individuos.

El análisis de la distribución de células por mancha y manchas por mosca permite evaluar la genotoxicidad del aire, (como una mezcla compleja) al producirse un incremento significativo en la frecuencia de manchas (Hernández, 2000). También, como refiere Arellano (2002), permite establecer el tiempo aproximado en el que se indujeron las clonas mutantes, e identificar falsos positivos y negativos que pudieran influir en los resultados.

Así, los resultados de la distribución de células por mancha en moscas libres de balanceador muestran que su distribución es continua y gradual; es decir, se va incrementando la frecuencia conforme los sitios se hallan más cercanos al área de reproducción, que es la principal área de emisión de agentes genotóxicos volátiles. Al ser principalmente manchas chicas (1-2 células), esto es indicativo de que posiblemente el daño se efectuó en las etapas tardías de diferenciación de los discos imagales de ala, debido a que los xenobióticos presentes en este ambiente requieren ser biotransformados o bioacumulados para generarlo, o probablemente a que las concentraciones de estos compuestos en el ambiente no fue suficiente para potenciar el daño.

Es necesario considerar como un factor importante a las fluctuaciones en la concentración de xenobióticos disueltos en el aire, ya que las moscas expuestas no siempre recibieron la misma concentración de xenobióticos y no en todo momento estas sustancias fueron las mismas. Los sitios en donde se recuperaron moscas con manchas más grandes ( $\geq 3$  células) con respecto al testigo fueron: diseño, recepción y los sitios 1 y 2 dentro del área de



reproducción. Las moscas portadoras de balanceador, por su parte, mostraron una distribución de células por mancha similar a la recuperada en el testigo.

En la tabla 16 se resume la comparación de la distribución de manchas en moscas de la progenie de la cruce *SMART* expuestas en “Las Prensas de Ciencias”; con respecto a las moscas testigo, que permanecieron en el Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental. Los signos “+”, “-“ e “=”; indican que la distribución por frecuencia, tamaño o número de manchas fue mayor, menor o similar que en las moscas del testigo. Para la frecuencia de células por mancha y manchas por mosca se tomó como criterio interno del laboratorio que fuesen mayor o menores al 66% de lo obtenido en el testigo. En el caso del tamaño de mancha se consideró mayor o menor al testigo cuando la frecuencia corregida de manchas totales fue 66% diferente del testigo.

**Tabla 16. Distribución de manchas en moscas expuestas en “Las Prensas de Ciencias” con respecto al testigo.**

	<i>flr3/mwh</i>			<i>TM3, Bd<sup>S</sup>/mwh, e</i>		
	Frecuencia células por mancha	Tamaño de mancha	Manchas por mosca	Frecuencia células por mancha	Tamaño de mancha	Manchas por mosca
Bodega	=	=	=	=	+	=
Diseño	+	+	+	=	+	+
Oficina	=	=	=	=	+	+
Fotocopiado	=	=	=	=	=	=
Almacén	=	=	=	=	+	=
Recepción	+	=	=	=	=	=
Revelado	=	=	=	=	=	=
Sitio 1	+	+	=	=	=	=
Sitio 2	+	+	+	=	=	=
Sitio 3	=	=	=	+	+	+
Sitio 4	=	=	=	=	=	+

( + ) mayor que el testigo, ( - ) menor que el testigo, ( = ) igual al testigo

Los resultados obtenidos a partir de la prueba *SMART* resultaron ser más informativos y reflejar de manera más clara, la sensibilidad que posee *Drosophila melanogaster* para detectar concentraciones variables de xenobióticos en un ambiente laboral, que el índice de sobrevivencia. Además, a través de la prueba *SMART* se identificaron sitios en los que hay una mayor concentración de xenobióticos y que estos agentes son capaces de generar daño genotóxico.

Dentro de nuestra área de estudio, la prueba *SMART* identificó que en diseño y en el sitio 2 del área de reproducción se generó daño genotóxico sobre las moscas expuestas probablemente por encontrarse presentes concentraciones más altas de contaminantes; sin embargo, las áreas donde se utilizan compuestos y pueden liberarse en mayor cantidad y con efectos potencialmente tóxicos sobre la salud, son dentro del área de reproducción y la de revelado (Tabla 17). El no haber encontrado positiva la exposición de las moscas en el área de revelado sugiere que el volumen de las sustancias allí usadas es reducido o que el número de trabajos que se realizan en este sitio es limitado. Por otra parte la tasa de circulación de los xenobióticos en el taller es variable y favorece la acumulación de estos en el área de diseño. Esto concuerda con lo mencionado por Herber y colaboradores (2001), quienes indican que las sustancias pueden fluctuar en las áreas de trabajo.

En la tabla 16 se muestra que además de las áreas de diseño y reproducción, en otras áreas del taller como bodega, oficina, almacén y recepción, existe la presencia de xenobióticos, capaces de modificar la respuesta de las moscas y ser detectado al analizar la distribución de las manchas generadas. Por ello es que los resultados negativos obtenidos a través de la prueba *SMART*, no son suficientes para poder afirmar que en estos, la exposición de los organismos no genera daño genotóxico, y que se debe incluir en el análisis global, los resultados obtenidos del IS, ISx, la distribución de manchas por mosca, la

frecuencia de células por mancha, así como el tamaño de la mancha, para poder descartar falsos negativos.

**Tabla 17. Productos utilizados en “Las Prensas de Ciencias” con efectos tóxicos.**

<b>Producto</b>	<b>Compuestos químicos potenciales</b>	<b>Efecto</b>	<b>Área de uso</b>
Gasolina blanca	Tolueno	Neurotóxico Nefrotóxico Genotóxico	Reproducción
Thinner	Xileno		
	Tolueno	Neurotóxico Nefrotóxico Genotóxico	Reproducción
	Xileno		
Aguarras	Metanol	Neurotóxico	
	Benceno	Carcinógeno	
	Isopropanol	Neurotóxico	Reproducción
Removedor multitek			
Pegamentos	Tolueno	Neurotóxico Nefrotóxico Genotóxico	Reproducción
Removedor de pintura	Tolueno	Neurotóxico Nefrotóxico Genotóxico	Reproducción
	Benceno	Carcinógeno	
	Cloruro de metileno	Mutágeno	
Kodak ektochrome film	Formaldehído	Carcinógeno	Revelado
	Metanol	Neurotóxico	
	Hidroquinona	Mutágeno	
Print activator	Hidroquinona	Mutágeno	Revelado
Liquid developer	Hidroquinona	Mutágeno	Revelado
	Metanol	Neurotóxico	

Nota: Los productos presentados son aquellos en los que el fabricante informa de su composición química y los efectos corresponden a los reportados en las hojas técnicas de los productos.

El análisis de correlación de Pearson es utilizado para tener una medida de la intensidad de la relación lineal entre dos variables cuando se elimina la influencia de las variables restantes (Daniel, 2007), en este caso, entre el IS y la frecuencia de manchas totales en la prueba *SMART*. Arellano (2002)

encontró que estaban inversamente relacionadas al evaluar la respuesta de *Drosophila* a muestras de agua de diferentes pozos ubicados en la zona de Los Azufres, Michoacán. Con ello, infirió que cuando hay una alta frecuencia de manchas se recupera una menor cantidad de organismos, caso contrario, cuando se tiene una frecuencia baja de manchas se obtiene un número mayor de organismos. No obstante, la frecuencia de manchas obtenida de la exposición en el taller y el IS no mostraron estar significativamente relacionados ( $p > 0.05$ ), para ninguno de los tipos de progenie de la cruce *SMART*. Este resultado podría deberse principalmente al efecto de las fluctuaciones de los xenobióticos, tanto espacial como temporalmente, en la mezcla de aire ambiental a la que estuvieron expuestas las moscas. A pesar de esto es importante considerar estos biomarcadores como blancos potenciales en la identificación de efectos tóxicos.

Knudson (1991), reportó que al generar alteraciones somáticas por procesos de mutación y recombinación en células de organismos heterocigotos que inhiban la expresión de algunos genes, podría inducirse la de otros genes que contribuyan a la progresión de tumores por la pérdida de heterocigocidad. De esta forma, algunos eventos de recombinación mitótica podrían aumentar la pérdida de heterocigosis. Por ello, es importante identificar fuentes de exposición y/o compuestos capaces de inducir eventos de recombinación. Así, esta prueba nos brinda la ventaja de identificar daño genotóxico a través de mecanismos de mutación y la *SMART* y el IS pueden ser utilizados como biomarcadores de gran importancia en el reconocimiento de mezclas complejas con potencial carcinogénico dentro de un ambiente laboral.

El área de estudio cuenta con poca ventilación hacia el interior, siendo los principales puntos de intercambio de aire al lugar: la recepción, fotocopiado y el almacén. En la recepción se encuentra la puerta principal de entrada al taller, la cual se mantiene abierta de acuerdo al flujo de usuarios y trabajadores. En fotocopiado el intercambio de aire se realiza a través de las ventilas que se

encuentran en la parte superior de las ventanas y que constantemente están abiertas, mientras que en el almacén, este intercambio es ocasional; ya que, la puerta que allí se encuentra sólo se abre cuando se realiza el lavado de la maquinaria o la entrega de material en abundancia. En el área de reproducción se encuentra ubicado un extractor de aire que comúnmente no está en operación.

De acuerdo a estas características y considerando los resultados obtenidos, se sugiere en la figura 20 la posible ruta de flujo de aire dentro del taller y en cuales áreas principalmente se concentra.

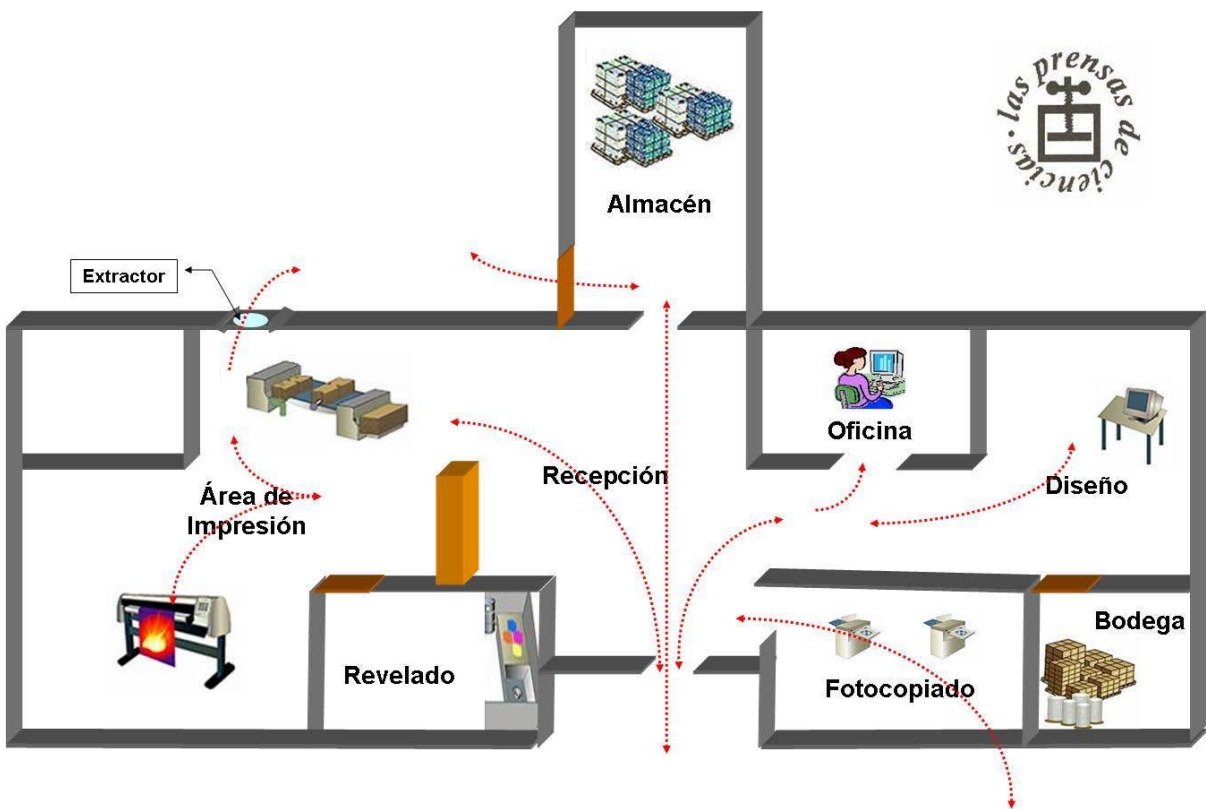


Figura 20. Flujo de aire dentro de “Las Prensas de Ciencias”.

*Drosophila melanogaster* es un modelo biológico útil, que presenta múltiples ventajas (Muñoz, 1995; Johnston, 2002; Gilbert, 2004) y puede ser usado en la caracterización de la concentración de contaminantes dentro de ambientes laborales potencialmente tóxicos o con carácter carcinogénico. Entre las ventajas de este modelo, el hecho de que tenga un ciclo de vida corto y ser capaz de generar una prole grande, nos permite obtener información rápidamente del daño genotóxico que se está induciendo como producto de la exposición a la cual es sometido y obtener estos datos a nivel poblacional, lo que en otros modelos como la rata o el ratón sería difícil de obtener.

Otra ventaja del modelo es que al utilizar la prueba *SMART*, se pueden reconocer los mecanismos de mutación que se llevan a cabo en la reparación del daño causado por los xenobióticos presentes en una muestra compleja, mostrando sensibilidad a ésta. El reconocimiento de mecanismos de mutación también se puede lograr empleando otras metodologías como la prueba de Ames, sin embargo, *D. melanogaster* es un organismo eucarionte que tiene mayor complejidad anatómica, sistémica y funcional que la de la bacteria *Salmonella typhimurium*.

A pesar de ello, muy pocas aplicaciones relevantes han sido publicadas. Rappaport *et al.* (1995), señala que probablemente esto se relaciona con la dificultad para interpretar resultados de biomarcadores en el contexto de relaciones exposición-respuesta. Contrario a lo anterior, este modelo biológico es capaz de producir resultados que pueden ser interpretados con claridad, si utilizamos la prueba adecuada y aplicamos las herramientas estadísticas que mejor modelen los datos, tomando en cuenta, la pregunta que se desea contestar.

## 8. CONCLUSIONES.

- *Drosophila melanogaster* es un organismo modelo capaz de responder a cambios en las concentraciones ambientales de xenobióticos presentes en un ambiente laboral.
- La exposición de *Drosophila* a un ambiente laboral dedicado a la impresión modifica el Índice de Supervivencia entre las líneas de moscas.
- La inducción de manchas en moscas libres de balanceador fue mayor que en las moscas portadoras de balanceador, que fueron expuestas en el ambiente de estudio.
- Las áreas de mayor exposición a xenobióticos volátiles evaluado por su actividad genotóxica fueron: Diseño y el Área de Reproducción.
- El uso combinado de diferentes análisis complementan los resultados obtenidos en las pruebas individuales y facilitan a la toma de decisiones.
- La variación en la respuesta puede ser utilizada como una herramienta estadística que complemente los resultados obtenidos y puede ayudar en la toma de decisiones sobre la toxicidad en un lugar.

## 9. PERSPECTIVAS.

1. Utilizar un compuesto mutagénico de referencia como control positivo para relacionar la frecuencia de manchas obtenida en éste, con la obtenida de la exposición en un ambiente ocupacional.
2. Realizar mediciones fisicoquímicas de los compuestos que se encuentran en el área de estudio para establecer cuales son los compuestos químicos con potencial para generar daño genotóxico.
3. Exponer a *D. melanogaster* en cámaras de inhalación, controlando la concentración de los xenobióticos o la duración de la exposición para poder establecer si existe una relación entre la concentración y la inducción de manchas.
4. Realizar mediciones de metabolitos de los xenobióticos presentes en el aire, en humanos para establecer una relación con los datos obtenidos en *Drosophila*.



## 10. REFERENCIAS.

1. Adachi-Yamada T y O'Connor M (2002). Morphogenetic apoptosis: A mechanism for correcting discontinuities in morphogen gradients. *Developmental Biology* 252: 74-90
2. Albanese R y Middleton B (1987). The assessment of micronucleated polychromatic erythrocytes in rat bone marrow. Technical and statistical considerations. *Mutat. Res.* 182(6): 323-332
3. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K y Watson J (1994). *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing, Inc. United States of America. 1294 pp.
4. Ames B, Lee F y Durston W (1973). An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 70(3): 782-786.
5. Amrani S, Rizki M, Creus A y Marcos R (1999). Genotoxicity activity of different chromium compounds in larval cells of *Drosophila melanogaster*, as measured in the wing spot test. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 34: 47-51
6. Arellano R. (2002). *Drosophila* como modelo *in vivo* para evaluar potencial genotóxico de muestras ambientales. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 51 pp.
7. Auerback C, Robson J y Carr J (1947). The chemical production of mutations. *Science* 105: 243
8. Azcona-Cruz M, Rothenberg S, Schnaas L, Zamora-Muñoz J y Romero-Placeres M (2000). Lead-glazed ceramic ware and blood lead levels of children in the city of Oaxaca, Mexico. *Arch. Environ. Health.* 55(3): 217-222
9. Baars A, Blijleven WG, Mohn G, Natarajan A y Breimer D (1980). Preliminary studies on the ability of *Drosophila* microsomal preparations to activate mutagens and carcinogens. En: Rodríguez-Arnaiz R y Ramos P

- (1992). *Drosophila* como sistema para detectar agentes genotóxicos. Prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM. 50 pp.
10. Badii M, Garza C, Garza V y Landeros J (2005). Los indicadores biológicos en la evaluación de la contaminación por agroquímicos en ecosistemas acuáticos y asociados. *CUICYT*. 6: 4-20
  11. Badyal D y Dadhich A (2001). Cytochrome P450 and drug interactions. *Indian Journal of Pharmacology*. 33: 248-259
  12. Ballantyne, B. (2005). The occupational toxicologist: professionalism, morality and ethical standards in the context of legal and non-litigation issues. *J. Appl. Toxicol.* 25: 496-513
  13. Bassett MH, McCarthy JL, Waterman MR y Sliter TJ (1997). Sequence and developmental expression of *Cyp18*, a member of a new cytochrome P450 family from *Drosophila*. *Mol. Cell. Endocrinol.* 131: 39-49
  14. Becker R, Brozena S y Smith D (2003). What is Biomonitoring? *Chemistry Business* 1-4
  15. Bergé JB, Feyereisen R y Amichot M (1998). Cytochrome P450 monooxygenases and insecticide resistance in insects. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 353: 1701-1705
  16. Bickman J, Sandhu S, Hebert P, Chikhi L y Athwal R (2000). Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and Ecotoxicology. *Mutation Research*. 463: 33-51
  17. Bienek G, Kurkiewicz S, Wilczok T, Klimek K, Swiatkowska L y Lusiak A (2004). Occupational exposure to aromatic hydrocarbons at a coke plant: Part II. Exposure assessment of volatile organic compounds. *J. Occup. Health* 46: 181-186
  18. Brun A, Cuany A, LeMouel T, Bergé JB y Amichot M (1996). Inducibility of the *Drosophila melanogaster* cytochrome P450 gene, *CYP6A2*, by phenobarbital in insecticide susceptible or resistant strains. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 26: 697-703

19. Brusick D. (1980). Fundamentals of genetic toxicology. En: Brusick D. (1987). Principles of genetic toxicology. Plenum Press. New York. 11-44 pp.
20. Brusick D. (1987). Principles of genetic toxicology. Plenum Press. London. 284 pp.
21. Cashman J, Perotti B, Berkman C y Lin J (1996). Pharmacokinetics and molecular detoxication. *Environ. Health Perspect.* 104(supplement 1): 23-40
22. Cohen AJ y Pope CA (1995). Lung cancer and air pollution. *Environ. Health Perspect.* 103(supplement 8): 219-224
23. CONAMA-MR (1999). Guía para el control y prevención de la contaminación industrial. Industria Gráfica. Comisión Nacional del Medio Ambiente-Región Metropolitana. Santiago. 79 pp.
24. Danadevi K, Rozati , Banu B y Grover P (2004). Genotoxic evaluation of welders occupationally exposed to chromium and nickel using the Comet and micronucleus assays. *Mutagenesis.* 19(1): 35-41
25. Daniel V (1993). Glutathione S-transferases: Gene structure and regulation of expression. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 28: 173-207.
26. Daniel W (2007). Bioestadística. Base para el análisis de las Ciencias de la salud. Limusa Wiley. México. 924 pp.
27. De la Rosa-Duque M, Castellanos-Ferreiro R, Paez-Osuna F y Ruiz-Fernandez A (2002). Genotoxicidad del agua de la laguna de Caimanero, Sinaloa, México, en *Drosophila*. Memorias del 1er Congreso de Ecotoxicología. México. 39 pp.
28. DeCaprio AP (1997). Biomarkers: coming of age for environmental health and risk assessment. *Environ. Sci. Tech.* 31: 1837-1848
29. Dekant W y Vamvakas S (2005). Toxicology in occupational and environmental setting. Ullmann's Industrial Toxicology. WILEY-VCH. 150 pp.
30. Delgado A (2002). Genotoxicidad producida por diferentes fracciones de extractos orgánicos de aeropartículas de la Ciudad de México en

*Drosophila melanogaster*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. UNAM. 86 pp.

31. Dickson TR (1998). Química. Enfoque ecológico. Limusa. México. 406 pp.
32. Dor F, Dab W, Empereur-Bissonnet P y Zmirou D (1999). Validity of biomarkers of exposure to environmental mutagens in human populations. *Environ. Health Perspect.* 104(supplement 3): 423-428
33. Dubrow R (1986). Malignant melanoma in the printing industry. *Am. J. Ind. Med.* 10: 119-126
34. Erexson G, Wilmer J y Kligerman A (1983). Analyses of sister-chromatid exchange and cell-cycle kinetics in mouse T- and B-lymphocytes from peripheral blood cultures. *Mutat. Res.* 109(2): 271-281
35. Ernst P y Thériault G (1984). Known occupational carcinogens and their significance. *Can. Med. Assoc. J.* 130: 863-867
36. Espinoza MJ (2007). Evaluación del potencial genotóxico de Treda en células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 70 pp.
37. Eubanks M (1994). Biomarkers: The clues to genetic susceptibility. *Environ. Health Perspect.* 102(1): 50-56
38. Feyereisen R (1999). Insect P450 enzymes. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 507-533
39. Field J (1980). Graphics arts manual. En: CONAMA-MR (1999). Guía para el control y prevención de la contaminación industrial. Industria Gráfica. Comisión Nacional del Medio Ambiente-Región Metropolitana. Santiago. 79 pp.
40. Frei H y Würgler FE (1988). Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assay indicate a positive, negative or inconclusive result. *Mut. Res.* 203: 21-30
41. Frei H y Würgler FE (1996). Induction of somatic mutation and recombination by four inhibitors of eukaryotic topoisomerases assayed in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutagenesis* 11: 315-325

42. Friedlander B (1997). Efectos sobre la salud y pautas patológicas. Industria de las artes gráficas, fotografía y reproducción. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. 85.9- 85.12 pp.
43. Fuchs S, Spiegelman V y Belitsky G (1993). The effect of the cytochrome P-450 system inducers on the development of *Drosophila melanogaster*. *J. Biochem. Toxicology*. 8(2): 83-88
44. Gandhi R, Varak E y Goldberg ML (1992). Molecular analysis of a cytochrome P450 gene on a family 4 on the *Drosophila* X chromosome. *DNA Cell Biol*. 11: 397-404
45. García V (2006). Participación de inversiones múltiples en la modulación de la respuesta genotóxica de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 50 pp.
46. García-Bellido A y Dapena J (1974). Induction, detection and characterization of cell differentiation mutants in *Drosophila*. *Mol. Gen. Genet*. 128: 118-178
47. García-Niño WR y Ramos P (2006). Efecto de la presencia de marcadores genéticos sobre el índice de viabilidad en *Drosophila melanogaster*. Memorias del Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Genética 2006. Sociedad Mexicana de Genética (SMG). 43 p.
48. García WR y Ramos P (2004). Obtención de la curva de viabilidad huevo-adulto de tres cepas de *Drosophila melanogaster*. Memorias del Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Genética 2004. Sociedad Mexicana de Genética (SMG). 43 p.
49. Garrido G (2007). Prácticas de genética y mejoramiento vegetal. Departamento Producción Agraria. Universidad Pública de Navarra. 46 pp.
50. Gibb H, Lees P, Pinsky P y Rooney B (2000). Lung cancer among workers in chromium chemical production. *Am. J. Ind. Med*. 38(2): 115-126
51. Gilbert L (2004). Halloween genes encode P450 enzymes that mediate steroid hormone in *Drosophila melanogaster*. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 215: 1-10

52. González D y Zúñiga M (2006). Biomarcadores de exposición y daño. En: Jaramillo F, Rincón A y Posadas F (2006). Toxicología básica. Textos universitarios. México. 263-276 pp.
53. Goodman L y Gilman A (1991). Las bases farmacológicas de la terapéutica. McGraw Hill Interamericana. México. 1996 pp.
54. Graf U (1995). Analysis of the relationship between age of larvae at mutagen treatment and frequency and size of spots in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Experientia*. 51: 168-173
55. Graf U, Juon H, Katz AJ, Frei H y Würigler FE (1983). A pilot study on a new *Drosophila* spot test. *Mutation Res.* 120: 233-239
56. Graf U, Würigler FE, Katz AJ, Frei H, Juon H, Hall CB y Kale PG (1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutag.* 6: 153-188
57. Graf U y Singer D (1992). Genotoxicity testing of promutagens in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 8(1): 15-27
58. Graf U y Singer D (1989). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster* (wing-spot test): effects of extracts of airborne particulate matter from fire-exposed and non-fire-exposed building ventilation filters. *Chemosphere.* 19: 1094–1097
59. Grant WF (1998). Higher plant assays for the detection of genotoxicity in air polluted environments. *Ecosyst Health.* 4: 210-229
60. Grasso P, Sharratt M, Davies D y Irvine D (1984). Neurophysiological and psychological disorders and occupational exposure to organic solvents. *Food Chem. Toxicol.* 22(10): 819-852.
61. Gupta R, Earley K y Sharma S (1988). Use of human peripheral blood lymphocytes to measure DNA binding capacity of chemical carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85: 3513-3517
62. Guzmán J, Ramírez-Victoria P y Benítez L (1995). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila* used for biomonitoring of environmental

- pollutants. En: Butterworth M, Gunatilaka A y Gonsebatt ME (2001). *Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change 2*. Kluwer Academic/ Plenum Press. United States of America. 508 pp.
63. Guzmán J y Graf U (1995). *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor. En: Butterworth M, Gunatilaka A y Gonsebatt ME (2001). *Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change 2*. Kluwer Academic/ Plenum Press. United States of America. 508 pp.
  64. Hällström I y Grafström R (1981). The metabolism of drugs and carcinogens in isolated subcellular fractions of *Drosophila melanogaster*. II. Enzyme induction and metabolism of benzo[a]pyrene. *Chem.-Biol. Intect.* 34: 145-159
  65. Handschin C y Meyer U (2003). Induction of drug metabolism: The role of nuclear receptors. *Pharmacol. Rev.* 55(4): 649-673
  66. Hansen J (1999). Risk for testicular cancer after occupational exposure to plastics. *Int. J. Cancer.* 82(6): 911-912
  67. Harper M. (2004). Assessing workplace chemical exposures: the role of exposure monitoring. *J. Environ. Monit.* 6: 404-412
  68. Herber R, Duffus J, Molin J, Olsen E y Park M (2001). Risk assessment for occupational exposure to chemicals. A review of current methodology. (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* 6(73): 993-1031
  69. Hernández BR (2000). Comparación de la genotoxicidad de cuatro compuestos de cromo (VI) en células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 72 pp.
  70. Herrera JJH (2006). Efecto de las concentraciones bajas de talidomida en la fertilidad de moscas (*Drosophila melanogaster*) expuestas durante el desarrollo larvario. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 92 pp.
  71. Hurban p y Thummel CS (1993). Isolation and characterization of fifteen ecdysone-inducible *Drosophila* genes reveal unexpected complexities in ecdysone regulation. *Mol. Cell. Biol.* 13: 7101-7111

72. IARC (1996). Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Carbon Black. *International Agency for Research on Cancer* (65): 149–262 pp.
73. Iasnova L, Kozlova A y Trofimova O (1970). Effect of irradiated nutrient media on the frequency of chromosome aberrations in mammalian cells *in vitro*. *Radiobiologija*. 10(4): 504-511.
74. Jakoby WB (1994). Detoxication: Conjugation and hydrolysis. En: Handschin C y Meyer U (2003). Induction of drug metabolism: The role of nuclear receptors. *Pharmacol. Rev.* 55(4): 649-673
75. Jaramillo F y Acevedo S (2006). Absorción y distribución de xenobióticos. En: Jaramillo F, Rincón A y Posadas F (2006). Toxicología básica. Textos universitarios. México. 21-42 pp.
76. Jerrett M, Burnett RT, Ma R, Pope CA, Krewski D, Newbold K, Thurston G, Shi Y, Finkelstein N, Calle E y Thun M (2005). Spatial analysis of air pollution and mortality in Los Angeles. *Epidemiology* 16(6): 727-736
77. Johnston D (2002). The art and design of genetic screens: *Drosophila melanogaster*. *Nature Reviews Genetics*. 3: 176-188
78. Jowett T, Farid M, Oxtoby E y Wolf C (1991). Mammalian genes expressed in *Drosophila*: a transgenic model for the study of mechanisms of chemical mutagenesis and metabolism. *The EMBO Journal*. 10(5): 1075-1081
79. Kakkar P y Jaffery F (2005). Biological markers for metal toxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 19: 335-349
80. Kakkar P, Jaffery F y Viswanathan P (1996). Specific molecular probes for mechanistic studies in toxicology and molecular epidemiology for risk assessment. *Environ. Carcinogen. Ecotoxicol. Rev.* C14: 105-137
81. Kamrin M. (2004). Biomonitoring Basics. A report from biomonitoring-info.org. *Environmental Health Research Foundation*. 9 pp.
82. Kaya B, Yanikoglu A y Marcos R (1999). Genotoxicity studies on the phenoxyacetates 2,4-D and 4-CPA in the *Drosophila* wing spot test. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*. 19: 305-312



83. Katzung B (2005). *Farmacología básica y clínica. Manual Moderno.* México. 1152 pp.
84. Klaassen C (2001). *Casarett and Doull's Toxicology The basic science of poisons.* McGraw Hill. United States of America. 1236 pp.
85. Klebes A, Biehs B, Cifuentes F y Kornberg T (2002). Expression profiling of *Drosophila* imaginal discs. *Genome Biology* 3(8): 1-16
86. Klug S y Cummings R (2000). *Concepts of Genetics.* Prentice Hall. 816 pp.
87. Knudson (1991). Overview: Genes that predispose to cancer. *Mutation Research.* 247: 185-190
88. Kohler R (1994). Lords of the fly: *Drosophila* genetics and the experimental life. En: Johnston, D. (2002). *The art and design of genetic screens: Drosophila melanogaster.* *Nature Reviews Genetics.* 3: 176-188
89. Korczynski R (2000). Occupational health concerns in the welding industry. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 15(12): 936-945
90. Lam P y Gray J (2003). The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Marine Pollution Bulletin.* 46: 182-186
91. Lauwerys R y Hoet P (2001). *Industrial chemical exposure guidelines for biological monitoring.* Lewis Publishers. United States of America. 638 pp.
92. Lee W, Hoppin J, Blair A, Lubin J, Dosemeci M, Sandler D y Alavanja M (2004). Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the Agricultural Health Study. *Am. J. Epidemiol.* 159(4): 373-380
93. Ledezma P (2006). *Actividad genotóxica de afloramientos externos del confinamiento de residuos de cromo de Cromatos de México en Lechería Edo. de México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 82 pp.*
94. Leon D, Thomas P y Hutchings S (1994). Lung cancer among newspaper printers exposed to ink mist: A study of trade union members in Manchester, England. *Occ. And Envir. Med.* 51: 79-86

95. Lewis D, Ioannides C y Parke D (1998). Cytochromes P450 and species differences in xenobiotic metabolism and activation of carcinogen. *Environmental Health Perspectives*. 106(10): 633-641
96. Li A y Heflich R (1991). Genetic toxicology. CRC Press. United States of America. 493 pp.
97. Likhacheva E, Semennikova T, Vagina E, Iarina A y Klimina M (1999). Clinical course of asbestosis under the existing conditions in extraction and processing of serpentine asbestos. *Med. Tr. Prom. Ekol*. 5: 4-8
98. Linch K (2002). Respirable concrete dust-silicosis hazard in the construction industry. *Appl. Occup. Environ. Hyg*. 17(3): 209-221
99. Lindsley D y Zimm G (1992). The Genome of *Drosophila melanogaster*. Academic, Press, Inc. United States of America. 1132 pp.
100. Lowry L (1995). Role of biomarkers of exposure in the assessment of health risks. *Toxicol. Lett*. 77: 31–38 pp.
101. MacGregor J, Wehr C, Henika P y Shelby M (1990). The *in vivo* erythrocyte micronucleus test: measurement at steady state increases assay efficiency and permits integration with toxicity studies. *Fundam. Appl. Toxicol*. 14(3): 513-522
102. Maitra S, Dombrowski S, Waters L y Ganguly R (1996). Three second chromosome-linked clustered *Cyp6* genes show differential constitutive and barbital-induced expression in DDT-resistant and susceptible strains of *Drosophila melanogaster*. *Gene*. 180: 165-171
103. Maldonado L (1997). Caracterización genotóxica de la alfa-asarona y algunos compuestos relacionados en células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. 78 pp.
104. Margolin B (1985). Statistical studies in genetic toxicology: A perspective from the U.S. National Toxicology Program. *Environmental Health Perspectives*. 63: 187-194
105. Markow T y O'Grady P (2006). *Drosophila* a guide to species identification and use. Elsevier Inc. 259 pp.
106. Martínez V (1999). Determinación de la actividad genotóxica de dos

plantas medicinales (*Thevetia thevetioides* y *Plantago major*). En la prueba somática de las alas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 58 pp.

107. Mathews C, Van Holde K y Ahern K (2002). Bioquímica. Addison Wesley. España. 1335 pp.
108. Mayer F, Versteeg D, McKee MJ, Folmar L, Graney R, McCume D y Rattner B (1992). Physiological and nonspecific biomarkers. En: Wu R, Siu W y Shin P (2005). Induction, adaptation and recovery of biological responses: Implications for environmental monitoring. *Marine Pollution Bulletin*. (Article in press).
109. Mercado-Calderón F (1997). Contaminantes orgánicos volátiles. En: Albert L (1997). Introducción a la Toxicología Ambiental. Centro Panamericano de Ecología. México. 299-313 pp.
110. Mendoza-Cantú A, Castorena-Torres F, Bermúdez M, Cisneros B, López-Carrillo L, Rojas-García A, Aguilar-Salinas A, Manno M y Albores A (2006). Occupational toluene exposures induces cytochrome P450 2E1 mRNA expression in peripheral lymphocytes. *Environ. Health Perspec.* 114(4) : 494-499
111. Miller G (1997). Artes gráficas y publicación. En: Industria de las artes gráficas, fotografía y reproducción. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. 85.2- 85.6 pp.
112. Montero R, Serrano L, Araujo A, Dávila V, Ponce J, Camacho R, Morales E, Méndez A (2006). Increased cytogenetic damage in a zone in transition from agricultural to industrial use: Comprehensive analysis of the micronucleus test in peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis.* 21(5): 335-342
113. Morales A y Ramos-Morales P (2006). Comparación de la toxicidad y genotoxicidad de muestras de agua residual y tratada de la peletera "Cortijos Toluca" en *Drosophila melanogaster*". Memorias del Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Genética 2006. Sociedad Mexicana de Genética (SMG). 43 p.
114. Morgan M (1996). The biological exposure indices: a key component in protecting workers from toxic chemicals. *Environ. Health Perspect.* 105(supplement 1): 105-115

115. Muller H (1927). Artificial transmutation of the gene. *Science* 66: 84-87
116. Mulvey M y Diamond SA (1991). Genetic factors and tolerance acquisition in populations exposed to metals and metalloids. En: Newman L y McIntosh A (1991). *Metal ecotoxicology. Concepts & applications.* Lewis Publisher. United Kingdom. 399 pp.
117. Muñoz A (1995). Relación entre el tiempo de acción de dos mutágenos y el tamaño de manchas inducidos en células somáticas de alas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 58 pp.
118. Muñoz A (1997). Comparación del potencial aneuploidógeno de compuestos citostáticos en células de las alas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. 70 pp.
119. Muñoz LB (2007). Genotoxicidad de una muestra ambiental externa a "Cromatos de México" en células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 68 pp.
120. Nebert DW y González FJ (1987). P450 genes: structure, evolution, and regulation. En: Handschin C y Meyer U (2003). Induction of drug metabolism: The role of nuclear receptors. *Pharmacol Rev.* 55(4): 649-673
121. Nielson H, Henriksen L y Olsen J (1996). Malignant melanoma among lithographers. *Scand. J. Work Environ. Health.* 22: 108-111
122. Niwa N, Hiromi Y y Okabe M (2004). A conserved developmental program for sensory organ formation in *Drosophila melanogaster*. *Nature Genetics.* 36(3): 293-297
123. Norman A y Sasaki MS (1966). Chromosome-exchange aberrations in human lymphocytes. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* 11(4): 321-328
124. Nöthiger R (1970). Sucrose density separation: a method for collecting large numbers of *Drosophila* larvae, *Dros. Inf. Serv.* 45: 177
125. Olea N, Fernández M, Araque P y Olea-Serrano F (2002). Perspectivas en disrupción endocrina. *Gac. Sanit.* 16(3): 250-256

126. Paustenbach D y Galbraitt D (2006). Biomonitoring and biomarkers: Exposure assessment will never be the same. *Environmental Health Perspectives* 114(8): 1143- 1149
127. Peakall D y Shugart L (1993). Biomarker-research and application in the assessment of environmental health. Springer. Berlin. 119 pp.
128. Peakall D y Shugart L (1998). Biomarkers. En: Wu R, Siu W y Shin P (2005). Induction, adaptation and recovery of biological responses: Implications for environmental monitoring. *Marine Pollution Bulletin*. (Article in press).
129. Perello M (2000). Informe de Actividades 1998-2000. Coordinación de Servicios Editoriales. Facultad de Ciencias. UNAM.
130. Perry P y Evans HJ (1975). Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature*. 258(5531): 121-125.
131. Pfäffli P y Säämänen A (1993). The occupational scene of styrene. *IARC Sci. Publ.* 127: 15-26
132. Piraino F, Aina R, Palin L, Prato N, Sgorbati S, Santagostino A, Citterio S (2006). Air quality biomonitoring: Assessment of air pollution genotoxicity in the Province of Novara (North Italy) by using *Trifolium repens* L. and molecular markers. *Science of the Total Environment*. 372: 350-359
133. PNEAC (1996). Printing Environmental Technology Fact Sheet. *Printers' National Environmental Assistance Center*. Montana State University. <http://www.pneac.org/printprocesses>
134. Que S (1993). Biological monitoring an introduction. John Wiley & Sons, Inc. United States of America. 650 pp.
135. Rainbow PS y Phillips DJP (1993). Review: Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Mar. Pollut. Bull.* 26: 593-601
136. Ramel C y Magnusson J (1992). Modulation of genotoxicity in *Drosophila*. *Mutation Research*. 267: 221-227
137. Ramos P, Abundis H, Gaytán J, Ordáz M, Orozco P, Maldonado J, Hernández J, González E, Reyes P, Galicia E y Muñoz J (1993). Manual

de Laboratorio de Genética para *Drosophila Melanogaster*. McGraw Hill. México. 131 pp.

138. Ramos P, Herrera-Bazán J, Muñoz-Moya A, Muñoz-Hernández A, Rivas-Martínez H, Hernández-Bernal B y García-Martínez V. (2006). Comparación de cuatro biomarcadores en la curva concentración-efecto de moscas expuestas a la NDMA. Memorias del Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Genética 2006. Sociedad Mexicana de Genética (SMG). 65 p.
139. Ramos P, Ordaz G, Dorantes A, Rivas H, Campos A, Martínez M y Hernández B (2000). *Drosophila* is a reliable biomonitor of water pollution. En: Butterworth M, Gunatilaka A y Gonshebbatt ME (2001). Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change 2. Kluwer Academic/Plenum Press. United States of America. 508 pp.
140. Ramos P, Ordaz G, Maldonado J, Muñoz A, González A, Abundis H, Campos A, Martínez M, Páez Y, Islas M, Gaytán J, Orozco P, Hernández B, Dorantes Y, Rivas H, Muñoz A y Jiménez I (1996). Susceptibilidad diferencial de *Drosophila melanogaster* en la prueba de mutación y recombinación somática (SMART). Análisis de la distribución muestral. Memorias del IV Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética. 5 p.
141. Ramos-Morales P y García-Galindo E (2002). Efecto de diferentes filtrados de agua en la genotoxicidad de *Drosophila melanogaster*. Memorias del 1er Congreso de Ecotoxicología. México. 39 pp.
142. Rappaport S (1995). Biological considerations in assessing exposures to genotoxic and carcinogenic agents. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 65: S29-S35
143. Rappaport S, Symanski J, Yager J y Kupper L (1995). The relationship between environmental monitoring and biological markers in exposure assessment. *Environ. Health Perspect.* 103(supplement 3): 49-53
144. Reyes JL, Jaramillo, F y Valdivia A (2006). Eliminación de los xenobióticos. En: Jaramillo F, Rincón A y Posadas F (2006). Toxicología básica. Textos universitarios. México. 53- 68 pp.
145. Reyes M y Posadas F (2006). La biotransformación de los compuestos tóxicos. En: Jaramillo F, Rincón A y Posadas F (2006). Toxicología básica. Textos universitarios. México. 43- 52 pp.

146. Richardson C, Styles J y Bennett I (1983). Activity of vinyl chloride monomer in the mouse micronucleus assay. *Mutat. Res.* 122(2): 139-142
147. Ritterhoff J, Zauke G-P, Dallinger R (1996). Calibration of the estuarine amphipods, *Gammarus zaddachi* Sexton (1912), as biomonitors: toxicokinetics of cadmium and possible role of inducible metal-binding proteins in Cd detoxification. *Aquatic Toxicology.* 36: 351-369
148. Rivas H (1999). Participación de la reparación en el daño inducido por mutágenos con diferente actividad química: N-nitrosodimetilamina (DMN), metilmetano-sulfato (MMS), colchicina, azida de sodio y cloruro de plomo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. 61 pp.
149. Rodríguez-Arnaiz R y Ramos P (1992). *Drosophila* como sistema para detectar agentes genotóxicos. Prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM. 50 pp.
150. Rodríguez ML y Jaramillo, F (2006). Introducción al estudio de la toxicología. En: Jaramillo F, Rincón A y Posadas F (2006). Toxicología básica. Textos Universitarios. México. 11-20 pp.
151. Rubin, G y Lewis, E (2000). A brief history of *Drosophila's* contributions to genome research. En: Johnston, D. (2002). The art and design of genetic screens: *Drosophila melanogaster*. *Nature Reviews Genetics* 3: 176-188
152. Rybicki B, Neslund-Dudas C, Nock N, Schultz L, Eklund L, Rosbolt J, Bock C y Monaghan K (2006). Prostate cancer risk from occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons interacting with the GSTP1 Ile105Val polymorphism. *Cancer Detect. Prev.* 30(5): 412-422
153. Rylander R, Thorn J y Attefors R (1999). Airways inflammation among workers in a paper industry. *Eur. Respir. J.* 13(5): 1151-1157
154. Sánchez L y Guerrero I (2001). The development of the *Drosophila* genital disc. *Bioessays.* 23: 698-707
155. Sawicki E (1977). Chemical composition and potential genotoxic aspects of polluted atmospheres Air Pollution and Cancer in Man. *IARC Sci. Publ.* 16: 127-157.

156. Schneider, D (2000). Using *Drosophila* as a model insect. *Nature Reviews Genetics*. 1: 218-226.
157. Scott J, Liu N y Wen Z (1998). Insect cytochromes P450: diversity, insecticide resistance and tolerance to plant toxins. *Comparative Biochemistry an Physiology Part C*. 121: 147-155
158. Shen T (1995). Industrial pollution prevention. En: CONAMA-MR (1999). Guía para el control y prevención de la contaminación industrial. Industria Gráfica. Comisión Nacional del Medio Ambiente-Región Metropolitana. Chile. 79 pp.
159. Siddique HR, Gupta SC, Dhawan A, Murthy RC, Saxena DK y Chowdhuri K. (2005). Genotoxicity of industrial solid waste leachates in *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 46: 189-197
160. Smith D, MacGregor J, Hiatt R, Hooper N, Wehr C, Peters , Goldman L, Yuan L, Smith P y Becker C (1990). Micronucleated erythrocytes as an index of cytogenetic damage in humans: demographic and dietary factors associated with micronucleated erythrocytes in splenectomized subjects. *Cancer Res*. 50(16): 5049-5054
161. Snyder M y Davidson N (1996). Two gene families clustered in a small region of the *Drosophila* genome. *J. Mol. Biol*. 166: 101-118
162. Solomon E y Bobrow M (1975). Sister chromatid exchanges - A sensitive assay of agents damaging human chromosomes. *Mutat Res*. 30(2): 273-278
163. Souza V, Medina R, Reguly ML y Rodrigues HH (2005). *Drosophila* wing-spot test for genotoxic assessment of pollutants in water samples from urban and industrial origin. *Mutation Research*. 583: 67-74
164. Stellman JM y Stellman SD (1996). Cancer and the workplace. *CA Cancer Journal for Clinicians*. 46: 70-92
165. Sundberg H, Ishaq R, Akerman G, Tjärnlund U, Zebühr Y, Linderöth M, Broman D y Balk L (2005). A bio-effect directed fractionation study for toxicological and chemical characterization of organic compounds in bottom sediment. *Toxicological Sciences*. 84(1): 63-72



166. Szyfter K, Szulc R, Mikstacki A, Stachecki I, Rydzanicz M y Jalosynski P (2004). Genotoxicity of inhalation anaesthetics: DNA lesions generated by sevoflurane *in vitro* and *in vivo*. *J. Appl. Genet.* 45(3): 369-374
167. Tejeda-Rodríguez T, Muñoz-Moya A, Muñoz-Hernández A, Rivas-Martínez H y Ramos-Morales P (2006). Evaluación de la toxicidad de aguas residuales de Curtidos Toluca por medio de los modelos *Drosophila melanogaster* y *Allium cepa*. Memorias del Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Genética 2006. Sociedad Mexicana de Genética (SMG). 43 p.
168. Tennant R y Zeiger E (1993). Genetic toxicology: Current status of methods of carcinogen identification. *Environmental Health Perspectives* 100: 307-315
169. Vega L y Reyes S (2006). Mutagénesis y genotoxicidad química. En: Jaramillo F, Rincón A y Posadas F (2006). Toxicología básica. Textos universitarios. México. 217-230 pp.
170. Vogel EW (1987). Evaluation of potential mammalian genotoxins using *Drosophila*: the need for a change in test strategy. *Mutagenesis.* 2(3): 161-171
171. Vogel EW, Graf U, Frei H-J, Nivard, MMJ (1999). The results of assays in *Drosophila* as indicators of exposure to carcinogens. *IARC Scientific Publications.* 146: 427- 470
172. Vuyyuri S, Ishaq M, Kuppala D, Grover P y Ahuja Y (2006). Evaluation of micronucleus frequencies and DNA damage in glass workers exposed to arsenic. *Environ. Mol. Mutagen.* 47(7): 562-570
173. Walker C (1998). The use of biomarkers to measure the interactive effects of chemicals. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 40(1-2): 65-70
174. Wang X, Eisen E, Zhang H, Sun B, Dai H, Pan L, Wegman D, Olenchock S y Christiani D (2003). Respiratory symptoms and cotton dust exposure; results of a 15 year follow up observation. *Occup. Environ. Med.* 60(12): 935-941
175. Waters L, Zelhof A, Shaw BJ y Chang L (1992). Possible involvement of the long terminal repeat of transposable element 17.6 in regulating

expression of an insecticide resistance-associated P450 gene in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 89: 4855-4859

176. Weinkove D y Leever S (2000). The genetic control of organ growth: insights from *Drosophila*. *Genetics & Development*. 10: 75-80
177. Werck-Reichhart D y Feyereisen R (2000). Cytochromes P450: a success story. *Genome Biology*. 1(6): 3003.1-3003.9
178. Wilson T (2001). Resistance to *Drosophila* to toxins. *Annu. Rev. Entomol.* 46: 545-71
179. Wilson T (2005). *Drosophila*: Sentinels of environmental toxicants. *Integr. Comp. Biol.* 45: 127-136
180. Winder C y Stacey N (2004). Occupational Toxicology. CRC Press. United States of America. 602 pp.
181. Wu R, Siu W y Shin P (2005). Induction, adaptation and recovery of biological responses: Implications for environmental monitoring. *Marine Pollution Bulletin*. (Article in press).
182. Würgler FE (1989). *Drosophila* techniques for somatic genotoxic assays. En: Graf U, Würgler FE, Katz AJ, Frei H, Juon H, Hall CB, Kale PG. (1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutag.* 6: 153-188
183. Würgler FE, Graf U y Frei H (1985). Somatic mutation and recombination test in wings of *Drosophila melanogaster*. *Progress in Mutation Research*. 5: 325-350
184. Würgler FE, Sobels FH, Vogel EW (1984). *Drosophila* as assay system for detecting genetic changes. En: Vogel EW, Graf U, Frei H-J, Nivard, MMJ (1999). *IARC Scientific Publications*. 146: 427- 470 pp.
185. Young R (2002). Genetic toxicology: Web resources. *Toxicology*. 173: 103-121
186. Yu M-H (2001). Environmental toxicology: Impacts of environmental toxicants on living systems. Lewis Publishers. 255 pp.

187. Zauke G, Ritterhoff J y Rinderhagen M (1998). Concepts and applications in aquatic biomonitoring. Aquatic Ecology Group, CvO Univ. Oldenburg. Germany. 38 pp.
188. Zauke GP, Von-Lemm R, Meurs HG y Butte W (1995). Validation of estuarine gammarid collectives (Amphipoda: Crustacea) as biomonitors for cadmium in semi-controlled toxicokinetic flow-through experiments. Elsevier Science. Great Britain. 209-219 pp.
189. Zijlstra JA y Vogel EW (1988). Metabolic inactivation of mutagens in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*. 198: 73-83