



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTOS DE MONOETERES DEL ETILENGLICOL
SOBRE LOS CROMOSOMAS DE LINFOCITOS
HUMANOS EN CULTIVO**

T E S I S

Que para obtener el Título de

B I O L O G O

P r e s e n t a

Patricia Guadalupe Orozco Soto

México, D. F.

1985



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODO	19
RESULTADOS	22
DISCUSION Y CONCLUSIONES	23
REFERENCIAS	29
TABLAS	41

RESUMEN

En este estudio se investigó el efecto de los disolventes metil, etil y butil celosolves en la inducción de aberraciones cromosómicas, aplicados en las concentraciones de 500, 1000, 2000 y 3000 ppm, utilizando para ello el sistema de linfocitos humanos en cultivo.

Al analizar células en metafase se notó que estos disolventes no aumentan significativamente la producción de aberraciones cromosómicas, tales como fragmentos y huecos, en tanto que en el caso de células tetraploides, se observó incremento únicamente en 3000 ppm de metil celosolve.

como inhalantes.

La tecnología moderna utiliza alrededor de 60 000 agentes químicos diariamente, el control a la exposición de los mismos es complejo debido a que las metodologías experimentales para la extrapolación de riesgos a la salud humana son aún inadecuadas y además porque el período de latencia entre el contacto y los efectos adversos reconocidos es muy grande (Sorsa et al., 1982).

El manual de salud y de seguridad de los Estados Unidos de América (OSHA, 1979), reporta aproximadamente 400 000 casos de enfermedades anuales así como fuerte incremento en la frecuencia de cáncer a consecuencia del manejo inadecuado de enorme cantidad de disolventes industriales, por lo que actualmente el estudio de la genotoxicidad de las exposiciones y su detección en el ambiente ocupacional ha adquirido gran importancia (Sorsa et al., 1982), siendo su principal objetivo mantener un estado óptimo de bienestar físico, mental y social en la población trabajadora, evitando el deterioro de la salud mediante la elaboración de una serie de leyes que conduzcan al establecimiento de niveles permisibles que según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Internacional del Trabajo (OIT) representen normas cuantitativas de higiene para un nivel que se considere inocuo, el cual se expresa como la concentración en función del tiempo (OMS, 1977).

De igual manera se han tratado de desarrollar programas bien planeados para el manejo de productos químicos o combinaciones de éstos, llevados al cabo por las diferentes insti

tuciones de higiene del trabajo, tanto en países industrializados como en desarrollo, los cuales incluyen estudios toxicológicos, genéticos y oncológicos así como epidemiológicos para definir los riesgos profesionales actuales, proporcionando mayor seguridad al trabajador industrial (OMS, 1977; OSHA, 1979).

Sin embargo, con frecuencia los obreros se exponen en su medio laboral, simultánea o sucesivamente a diversos factores físicos, químicos, biológicos y psicosociales, motivando así investigaciones encaminadas a detectar los problemas de salud causados por contactos múltiples que pueden actuar en forma sinérgica, ejerciendo efecto diferente del que causarla na sola exposición aislada (Kasparov et al., 1972; Kustov, 1971), sin dejar de considerar otros factores no necesariamente relacionados con el trabajo pero que alteran la susceptibilidad del hombre en el ambiente ocupacional, entre esos factores intrínsecos deben mencionarse algunos modificadores genéticamente determinados, el nivel nutricional, abusos en el consumo del cigarro, así como las condiciones ambientales en que se realiza el trabajo.

El Batawi (1971) describe los efectos potenciales de algunos hidrocarburos clorados, al observar en sujetos que utilizan un disolvente de pinturas conteniendo dicloruro de metileno y metanol, el aumento continuo en su carboxihemoglobina aún varias horas después de terminada la exposición, mientras que en sujetos únicamente en contacto con dicloruro de metileno no se nota tal incremento.

En cuanto a las condiciones ambientales, las tempera

turas atmosféricas altas elevan la volatilidad y la presión de vapor de las sustancias y por consiguiente aumentan su disponibilidad para la inhalación o absorción cutánea.

Mediante experimentos de toxicidad aguda se ha encontrado que en la dosis letal media (DL_{50}) la toxicidad de ciertos solventes es mayor cuando la temperatura ambiente se eleva de 20°C a 30°C , también se han mostrado los efectos combinados del etilenglicol y de las altas temperaturas sobre determinadas funciones renales en condiciones experimentales, lográndose a temperaturas ambientes de 35°C y 40°C , la reducción de la DL_{50} en 2.4 y 2.5 veces respectivamente (OMS, 1981).

En lo referente al nivel nutricional, se observa en animales de laboratorio, que la calidad y la cantidad de proteínas en la dieta puede influir sobre el curso de ciertas enfermedades endémicas y sobre la toxicidad de algunos plaguicidas, disolventes y metales (OMS, 1981).

La automedicación es otro factor importante de tomar en cuenta puesto que muchos medicamentos activan el sistema enzimático microsómico, acelerando por consiguiente los procesos de biotransformación de las sustancias que en ocasiones se refleja en una reducción o en una potenciación de su toxicidad sobre el organismo, ésta depende en gran parte de la medida en que se realice la biodegradación de dicha sustancia (OMS, 1981). De tal forma que es importante considerar todos estos factores al hacer monitoreos biológicos de exposiciones a mutágenos químicos en el ambiente ocupacional.

Los disolventes se han clasificado, según alguna de

sus características como son: tasa de evaporación, polaridad, composición química y aplicaciones industriales entre otras (Mellan, 1953; Gutiérrez-Flores, 1975).

Una de las propiedades más importantes es la velocidad de evaporación clasificada como: rápida, mediana y lenta, en donde los dos primeros tipos poseen mayor poder disolventes y son menos costosos por lo que son más utilizados, entre ellos se encuentran la acetona y el etanol; los disolventes de evaporación lenta mantienen durante más tiempo los sólidos en solución, a este grupo pertenecen el butanol, los carbitoles y los celosolves (Mellan, 1953; Gutiérrez-Flores, 1975).

Los disolventes han sido clasificados también de acuerdo con sus características funcionales o químicas en: disolventes activos cuya función es disolver las sustancias, tales como los celosolves y la acetona, co-solventes (acopladores) y solventes latentes que son aquellos que aumentan la capacidad de los activos entre los que se encuentran los alcoholes como el metanol y el etanol (Patty, 1963; Gutiérrez-Flores, 1975).

Otra clasificación de los disolventes industriales es la que hacen Lehman y Flury (1943), basada en la acción fisiológica de los mismos sobre el organismo, dividiéndolos en cinco grupos principales que son:

1. Venenos nerviosos, a los que pertenecen principalmente los alcoholes primarios (con excepción del alcohol metílico) éteres, aldehídos, cetonas, ciertos ésteres y bencina.
2. Venenos irritantes del pulmón, es decir que inducen inflamación en los tejidos con los que hacen contacto inmediato,

los representantes principales de este grupo son los ésteres de la serie del metil y ésteres del ácido fórmico.

3. Venenos hepáticos y metabólicos, donde se agrupan fundamentalmente los hidrocarburos clorados.

4. Venenos sanguíneos, como el benceno, sus derivados y los glicoles.

5. Venenos renales, como tetracloroetano y glicoles.

La acción fisiológica de cualquier sustancia es considerada por su tipo de acción, siendo por lo tanto irritantes, narcóticos o anestésicos, sofocantes y de daño funcional del metabolismo, cualquiera que sea el periodo de exposición, los efectos nocivos pueden ser locales o generales y desde el punto de vista clínico: agudos o crónicos.

Los disolventes volátiles entran al cuerpo principalmente por el tracto respiratorio, pero se pueden ingerir o bien absorber a través de la piel, cuando se inhalan sustancias perjudiciales pasan a la circulación general y son distribuidas al corazón y al sistema nervioso central, produciendo ya sea una acción tóxica general sin daño al tracto respiratorio o un efecto combinado que va en deterioro de la salud (Doolittle, 1954).

Las principales consecuencias toxicológicas de los disolventes son: irritación, sensibilización cutánea, alteraciones funcionales del sistema nervioso. carcinogénesis, mutagénesis y trastornos del aparato reproductor (OMS, 1977).

El metanol y el etanol provocan aberraciones cromosómicas en células de Vicia faba (Michaelis et al., 1959; Gómez-

Arroyo, 1974; López, 1980; Rosas, 1980) y producen mutaciones somáticas en Tradescantia (Hernández, 1977; Guadarrama, 1979).

De igual forma se ha descrito que el tñner y algunos de sus componentes como benceno, tolueno, acetato de etilo, hexano, heptano, etc., ocasionan alteraciones en los cromosomas de los meristemas radiculares de Vicia faba (Gómez-Arroyo, 1980; Castillo, 1981; Dávila, 1981).

Bregman (1971) describe alteraciones cromosómicas originadas por etanol en linfocitos humanos en cultivo e igualmente se ha demostrado la inducción de intercambios de cromátidas hermanas por metanol y etanol en el mismo sistema.

Ryley y Malcom (1969) encuentran daño cromosómico en el 6 % de los leucocitos en cultivo de 14 jóvenes que han inhalado disolventes (lacas, colas, removedores, tñner, etc), en comparación con el 2 % obtenido en los testigos; los daños cromosómicos observados son trirradios, rompimientos y huecos, sin embargo no presentan anomalías hematológicas ni del sistema nervioso central.

En la industria de los recubrimientos orgánicos los disolventes más utilizados son los monoéteres del etilenglicol conocidos comercialmente como " celosolves " (Devore, 1974; Gutiérrez-Flores, 1975).

El etilenglicol se usa como anticongelante no volátil de tipo permanente, componente de líquidos hidráulicos no inflamables y como materia prima para la preparación de gran número de resinas sintéticas y plastificantes (Kirk y Othmer, 1961).

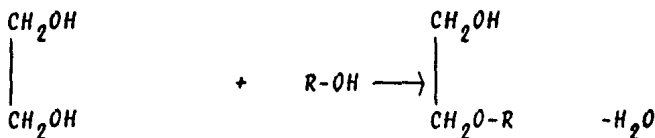
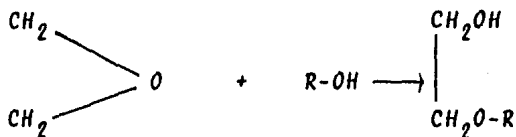
Las manifestaciones tóxicas de envenenamiento con

etilenglicol se relaciona con desórdenes del sistema nervioso central, confusión, convulsiones y coma, existiendo evidencias de nefrotoxicidad (Berman et al., 1957; Peterson et al., 1963).

Sin embargo, el etilenglicol ha sido reportado como no mutagénico en bioensayos con Salmonella typhimurium (McCann et al., 1975; Marshall et al., 1981, 1982).

Los celosolves se obtienen industrialmente por las siguientes reacciones:

1. Del óxido de etileno o glicol con los alcoholes correspondientes en presencia de un catalizador.



2. De clorhidrina de etileno con hidróxido de sodio y un sulfato de dialquilo como catalizador (Browning, 1965; Devore, 1974).

Los tres derivados monoalquílicos del etilenglicol usados principalmente son: metil celosolve, etil celosolve y butil celosolve.

a. El metil celosolve (2-metoxietanol), que se utiliza en la industria de las lacas, como disolvente para acetato de celulosa, nitrocelulosa, muchas resinas naturales, gomas y como adelgazador para algunos medicamentos, es frecuentemente usado en la preparación de barnices de secado rápido, esmaltes y colorantes o tintes de madera, así como en la industria del rotogravado, como endurecedor y para sellar celofán impermeable a la humedad (Browning, 1953; Jacobs, 1958). Es el compuesto que tiene la tasa más rápida de evaporación y el más bajo punto de ebullición. Es absorbido por la piel de los animales hasta en cantidades tóxicas (Rowe, 1963). Los vapores de este compuesto son irritantes de las membranas mucosas y la piel (Ohi y Wegman, 1978; Duprat y Gradiski, 1979); en perros y gatos una manifestación especial de su toxicidad es su efecto sobre la sangre, ya que la exposición prolongada a la inhalación de este disolvente causa anemia severa (Werner et al., 1943; Nitter-Hauge, 1970; Sunderman y Sunderman, 1970).

La intoxicación aguda por metil celosolve en animales de laboratorio produce edema pulmonar o bronconeumonía, ligera hiperemia en el hígado, cambios degenerativos en el riñón e irritación de la conjuntiva (Rowe, 1963). Wiley et al. (1938) también observan irritación de la mucosa del bazo y hemorragia gastrointestinal en conejos.

El efecto sobre las células rojas de la sangre de los animales sujetos a inhalaciones repetidas es la manifestación más significativa de envenenamiento crónico por metil celosolve (Carpenter et al., 1956; Browning, 1965). Werner et al. (1943)

a. El metil celosolve (2-metoxietanol), que se utiliza en la industria de las lacas, como disolvente para acetato de celulosa, nitrocelulosa, muchas resinas naturales, gomas y como adelgazador para algunos medicamentos, es frecuentemente usado en la preparación de barnices de secado rápido, esmaltes y colorantes o tintes de madera, así como en la industria del rotogravado, como endurecedor y para sellar celofán impermeable a la humedad (Browning, 1953; Jacobs, 1958). Es el compuesto que tiene la tasa más rápida de evaporación y el más bajo punto de ebullición. Es absorbido por la piel de los animales hasta en cantidades tóxicas (Rowe, 1963). Los vapores de este compuesto son irritantes de las membranas mucosas y la piel (Ohi y Wegman, 1978; Duprat y Gradiski, 1979); en perros y gatos una manifestación especial de su toxicidad es su efecto sobre la sangre, ya que la exposición prolongada a la inhalación de este disolvente causa anemia severa (Werner et al., 1943; Nitter-Hauge, 1970; Sunderman y Sunderman, 1970).

La intoxicación aguda por metil celosolve en animales de laboratorio produce edema pulmonar o bronconeumonía, ligera hiperemia en el hígado, cambios degenerativos en el riñón e irritación de la conjuntiva (Rowe, 1963). Wiley et al. (1938) también observan irritación de la mucosa del bazo y hemorragia gastrointestinal en conejos.

El efecto sobre las células rojas de la sangre de los animales sujetos a inhalaciones repetidas es la manifestación más significativa de envenenamiento crónico por metil celosolve (Carpenter et al., 1956; Browning, 1965). Werner et al. (1943)

notan la disminución de la hemoglobina en el volumen celular y en la frecuencia de células rojas con hipocromía, policromatofilia y microcitosis, asimismo Parry y Wallach (1974) observaron incremento en la frecuencia de células blancas inmaduras.

Young y Woolner (1946) describen los síntomas de dos hombres que ingirieron metil celosolve: desorientación, agitación, estupor y coma, acompañados por una respiración rápida profunda acidosis metabólica, necrosis tubular aguda que pudo estar asociada con oxaluria (Flanagan y Libcke, 1964; Nitter-Hauge, 1970), así como cambios degenerativos del hígado, necrosis temprana del páncreas, alargamiento y atrofia testiculares. (Morris *et al.*, 1942; Zavan, 1963; Nagano *et al.*, 1977).

Las expresiones de la intoxicación crónica por metil celosolve en humanos se acentúan más sobre el sistema nervioso central que sobre los riñones o las células sanguíneas, como lo demuestra el cuadro de encefalopatía tóxica que se caracteriza por dolor de cabeza, somnolencia, letargo, debilidad general, ataxia y disturbios psicopáticos (Donley, 1936).

Pruebas realizadas *in vitro* con Schizosaccaromyces pombe y células de criceto han mostrado que el metil celosolve no es un agente mutagénico (Abbondandolo *et al.*, 1980). Respecto a aberraciones los únicos trabajos encontrados en la revisión bibliográfica son los de McGregor *et al.* (1983) y Miller *et al.* (1983) en médula ósea de rata.

Gartner (1981) ha reportado que la inyección de 0.25 ml de metil celosolve a ratones incrementa sesenta y cuatro veces la sensibilidad de éstos a la endotoxina S.marcescens,

como lo demuestra la reducción de DL_{50} de 16 mg/kg a 0.25 mg/kg.

Marks et al. (1975) y Savolainen (1980) han descrito la reducción del crecimiento y la parálisis parcial en ratas expuestas durante dos semanas a la inhalación de vapores de 50, 100 y 400 ppm de metil celosolve, mostrando además el incremento en la actividad de la proteínasa ácida, así como la disminución en la función de la succinato deshidrogenasa lo cual está relacionado con la inhibición del metabolismo energético de las células gliales, que incluso puede manifestarse como una lesión desmielinizante.

Asimismo se ha demostrado que el metil celosolve posee efectos embriotóxicos, de tal manera que cuando se administra oralmente a hembras de ratón preñadas, en dosis mayores a 31.25 mg/kg se producen malformaciones esqueléticas en los fetos, tales como vértebras cervicales bifurcadas y vértebras lumbares fusionadas (Nagano et al., 1981).

Stenger et al. (1971) han establecido la posibilidad de que los monoéteres de etilenglicol de bajo peso molecular tengan propiedades teratogénicas.

b. El etil celosolve (2-etoxietanol) se utiliza como disolvente para colas, aceites, resinas sintéticas, alquídicas y fenólicas. Es ampliamente empleado en lacas nitrocelulósicas porque mejora el brillo, también se usa en flúidos para frenos, removedores de barnices, limpiadores de metales y vidrio, tintas textiles, de impresión y de piel. Sirve como agente extra

tante y cristalizador en la manufactura de antibióticos y drogas (Doolittle, 1954; Jacobs, 1958; Browning, 1965). Este es el compuesto menos tóxico de los tres que se mencionan y puede ser absorbido rápidamente por la piel (Draize et al., 1944).

En la intoxicación aguda de los animales de laboratorio que sigue a la inhalación del celosolve, sus riñones presentan hiperemia (Waite y Vant, 1930), produciéndose también congestión pulmonar y edema (Werner et al., 1943).

En la intoxicación crónica se muestran lesiones renales ligeras, aunque Lehman y Flury (1943) reportan casos de glomerulitis en gatos.

Werner et al. (1930) notan incremento en el número de cristales de oxalato en la orina, lo que permite relacionar al etil celosolve con el etilenglicol.

Waite y Vant (1930) y Wahlberg y Boman (1979) al estudiar la respuesta fisiológica de los cobayos al etil celosolve definen los siguientes síntomas: inactividad, debilidad, disnea y muerte al cabo de 18 a 24 horas de exposición al aire saturado con vapores al 0.6 %.

Se han descrito casos de trabajadores que han estado en contacto con este celosolve en los que se presenta coloración amarilla de la esclerótica, trazas de albúmina en la orina y un ligero incremento de urobilinas en la sangre. lo cual indica posibles daños en riñón e hígado. (Browning, 1953).

Pedersen et al. (1980) muestran decremento en los trombocitos y neutrófilos así como la elevación en la creatinina quinasa después de la exposición de un sujeto a etil celosolve,

señalando que la interacción de esta sustancia con el etanol produce aumento en la concentración de alcohol en el organismo, ya que el celosolve posee mayor afinidad por la alcohol deshidrogenasa que el alcohol.

Se ha reportado que la presencia de solventes orgánicos puede afectar el metabolismo in vitro de una variedad de sustratos y actividades enzimáticas, debido a sus propiedades físicoquímicas o bien que actúan como sustratos alternantes para las enzimas en cuestión, por ejemplo el etil celosolve inhibe la actividad de la hidroxilasa anilina y la o-dimetilación del p-nitroanisol, sin embargo, no muestra efecto alguno sobre el metabolismo del 2-aminoantraceno mediante la prueba de Ames (Kawalek y Andrews, 1980).

c. El butil celosolve (2-butoxi-etanol) es usado en lacas de cepillado a las que confiere una apariencia rojiza y brillante, es empleado como constituyente de materiales de limpieza para metales, en jabones para lavar en seco, en flujos hidráulicos y en la industria textil para teñidos y estampados, así como en acabados para piel, ciertos ésteres del butil celosolve son utilizados como plastificantes y herbicidas (Doolittle, 1954).

El butil celosolve es el más tóxico de los éteres glicólicos usados como disolventes, es rápidamente absorbido por la piel y el contacto prolongado es dañino (Browning, 1965).

En la intoxicación aguda se presenta pereza, postr

ción y narcosis. En animales a los que se administra en forma oral esta sustancia, se observa que produce hemoglobinuria (Carpenter et al., 1956).

En ratones la inhalación de butil celosolve no causa narcosis pero un síntoma constante es la disnea y a elevadas concentraciones se produce opacidad de la córnea o del cristalino (Werner et al., 1943); asimismo se ha demostrado mediante estudios basados en RD₅₀ (concentración de un agente químico ambiental que produce el decremento del 50 % en la tasa respiratoria de ratones) que el butil celosolve no es un irritante sensorial fuerte con respecto a otros disolventes como el acetato de etilo (Kane et al., 1974).

Durante la intoxicación crónica con butil celosolve las manifestaciones son: irritación respiratoria, hemoglobinuria, niveles bajos de hemoglobina y de células rojas, así como fragilidad de eritrocitos. Las ratas, ratones y conejos son los más susceptibles a esta acción hemolítica del butil celosolve (Browning, 1965; Smyth et al., 1969; Holmberg, et al., 1974).

El daño renal producido por inhalaciones repetidas se debe principalmente a la retención moderada de urea en la sangre (Lehman y Flury, 1943).

En estudios realizados con un hongo Cladosporium resiniae, se ha encontrado que tanto el metil como el etil celosolves inhiben la germinación de esporas y el crecimiento micelial y que éste último reduce la toma de glucosa por el organismo en un 25 % respecto a los testigos llegando a suprimirla totalmente al igual que la respiración, asimismo produce

la pérdida casi total de potasio y de proteínas solubles, lo cual refleja en alguna medida daño funcional a la membrana celular (Lee y Wong, 1979).

No se encontraron estudios sobre la producción de aberraciones por etil y butil celosolves.

Los tres disolventes mencionados anteriormente son polares, de tipo activo y de evaporación lenta (Gutiérrez-Flores, 1975) y tienen la característica de presentar una cadena $-O-CH_2-CH_2-OH$ conteniendo dos grupos funcionales, éter (C-O-C) y alcohol (OH) por lo que se les da también el nombre de alcohol éteres.

De acuerdo con Morryson y Boyd (1973) y Devore (1974), los éteres son compuestos estables hacia las bases, los agentes oxidantes y los reductores de tal manera que se consideran menos reactivos que los alcoholes.

Los efectos de los éteres y alcohol éteres puede ser, según algunos autores directa (Doolittle, 1954; Browning, 1965), o bien que al hidrolizarse los celosolves producen ácido oxálico que es el producto final de la oxidación mediada por la alcohol deshidrogenasa (Flanagan y Libcke, 1964; Nitter-Hauge, 1970; Ohi y Wegman, 1978).

En el caso del metil celosolve, Stenger et al. (1971) señalan que el enlace etéreo puede ser convertido dentro del cuerpo en alcohol y etilenglicol con la posible producción de los ácidos fórmico y oxálico respectivamente.

Pedersen et al. (1980) muestran que el etil celosolve puede ser metabolizado por la alcohol deshidrogenasa hepática

in vitro y a la cual es más afín que el etanol. En tanto que el butil celosolve, de acuerdo con Browning (1965), se metaboliza a ácido butoxiacético, el cual es responsable de la acción hemolítica del disolvente, además de que puede servir como monitor de exposición a esta sustancia (Anna-Karin y Steen, 1978).

Algunas de las alteraciones inducidas por los diferentes agentes físicos, químicos y biológicos son los rompimientos; tales como fragmentos cromatídicos o cromosómicos, anillos céntricos o acéntricos, figuras radiales simples o complejas y los huecos o lesiones acromáticas (Evan y O'Riordan, 1975), éstos últimos usualmente no son considerados cambios estructurales y en su evaluación como criterio de daño cromosómico existen muchas controversias, la naturaleza de los mismos ha sido revisada por varios autores, quienes los describen como rompimientos de banda sencilla (Evans, 1967; Bender et al., 1973), rompimientos incompletos (Brecher, 1977) o defectos en el doblamiento de la fibra cromosómica (Taylor et al., 1962; Brogger, 1975) o bien originados por la pérdida local de ADN o proteínas o por su desespiralización (Scheid y Traut, 1971; Hittelman y Rao, 1974; Brinkley y Hittelman, 1975).

Otro daño que se ha descrito que provocan los disolventes es sobre la región centromérica, originando los cromosomas con el centrómero inactivado u los isocromosomas al producirse la ruptura transversal del mismo. o bien sobre el huso acromático ocasionando la formación de anáfases multipolares y C-mitosis (López, 1980; Rosas, 1980; Castillo, 1981).

Actualmente los estudios citogenéticos parecen ser los más adecuados para detectar diversos efectos causados por agentes químicos, físicos o biológicos en personas expuestas (Sorsa et al., 1982) voluntaria o involuntariamente pero que en alguna forma han sido dañadas en su salud.

Los cultivos de células humanas y en especial de linfocitos periféricos tienen ventajas que los hacen adecuados para este tipo de estudios debido a que se puede obtener fácilmente una población celular numerosa (Evans y O'Riordan, 1975) y por medio de mitógenos como la fitohemaglutinina, inducirlos a dividirse in vitro (Jasinska et al., 1970; Crossen y Morgan, 1977), además de ser un sistema biológico que puede relacionarse más directamente con el hombre y dada la gran importancia y amplia aplicación que tienen en la actualidad los disolventes, así como la conocida acción mutagénica de algunos de ellos y a los escasos reportes en relación a los celosolventes en cuanto a efectos genéticos, en este trabajo se pretende establecer y comparar el daño cromosómico producido por metil, etil y butil celosolventes en cultivo de linfocitos humanos, así como la determinación del comportamiento de concentración-respuesta de cada una de las sustancias utilizadas.

MATERIAL Y METODO

Se realizaron cultivos de sangre periférica humana de sujetos sanos de la siguiente manera:

Se tomó una muestra sanguínea (10 ml) con una jeringa heparinizada (Lipo-Hepin 1000 U) y se colocaron 8 gotas de san gre en un frasco de cultivo conteniendo 5 ml de medio McCoy 5a (Mícrolab) más 0.20 ml de fitohemaglutinina-M poniéndose a in cubar a 37 °C durante 48 horas.

A las 46 horas se adicionó una solución de colchicina hasta obtener una concentración final de 4 ug/ml de cultivo y se dejó que los cultivos completaran 48 horas, posteriormente el contenido de cada frasco se trasladó a tubos de centrifuga y fueron centrifugados a 800 rpm, durante 5 minutos, al término de éstos se deshechó el sobrenadante con una pipeta Pasteur de de jando un volumen igual al botón el cual se resuspendió en una solución hipotónica (0.075 M de KCl) previamente calentada a 37 °C y se colocaron en baño maría a la misma temperatura du- rante 20 minutos.

Transcurrido este lapso, se centrifugaron 5 minutos a 800 rpm y se retiró el sobrenadante, resuspendiendo los boto- nes en 5 ml de fijador metanol-ácido acético (3:1) dejándolos reposar 15 minutos. Después se repitió el proceso de centrifu gación y fijación permaneciendo el botón en el fijador por 10 minutos; a continuación fueron centrifugados de igual manera y se deshechó totalmente el sobrenadante, agregándose 0.5 ml de fijador y realizando las preparaciones por goteo dejándolas

secar al aire.

Una vez secas las laminillas se tiñeron con una solución de Giemsa 1:10 en agua corriente, durante 10 minutos, eliminando el exceso de colorante con agua de la llave.

Siguiendo el método anterior, simultáneamente a la siembra de los cultivos, se añadieron las concentraciones correspondientes de cada uno de los disolventes, metil celosolve, etil celosolve y butil celosolve (Quimiván).

Las concentraciones utilizadas fueron determinadas mediante experimentos preliminares de toxicidad de cada disolvente, que abarcaron entre 20 y 15 000 ppm, notándose que a partir de 6000 ppm con las tres sustancias disminuyó drásticamente el número de células, por tal razón en el presente trabajo se emplearon 500, 1000, 2000 y 3000 ppm.

Las soluciones de los diferentes disolventes fueron preparadas con agua destilada y se esterilizaron mediante filtración con membranas "Millipore" de 0.45 u.

Se tuvieron 10 frascos de cultivo en total para cada sustancia, correspondiendo dos para cada concentración y al testigo, el experimento se repitió con una semana de diferencia para cada disolvente, haciendo únicamente el cultivo de un solo celosolve en cada ocasión.

Las muestras sanguíneas correspondieron a un solo donador, tratando que siempre fueran iguales las condiciones de salud, hábitos, higiene, etc de la persona y del ambiente de trabajo.

Es necesario mencionar que debido a que se encontró

un polimorfismo en el cromosoma número 17 correspondiente al grupo E consistente en que posee satélites, se optó por no tomar en cuenta este grupo en los registros para evitar la con fusión con una posible alteración cromosómica.

Los registros se hicieron en 100 células en metafase ya que es recomendable dicho número para que el análisis esta dístico sea representativo (Moorhead et al., 1960; Arakaki y Sparkes, 1963), contabilizándose todas las alteraciones obser vadas. Las preparaciones fueron observadas sin conocimiento de su origen para evitar prejuicio del observador. El análisis es tadístico de los datos se realizó aplicando la prueba "t" de student, cuya fórmula es:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2 + S_2^2}{N_1 + N_2}}}$$

\bar{X}_1 = media poblacional de los tratamientos

\bar{X}_2 = media poblacional de los testigos

S_1 = Varianza de los tratamientos

S_2 = Varianza de los testigos

N_1 = Total de metafases analizadas en los tratamientos

N_2 = Total de metafases analizadas en los testigos

RESULTADOS

La evaluación del efecto de los celosolves en los cromosomas de linfocitos humanos se hizo mediante el registro de alteraciones en células en metafase, como son fragmentos, huecos y células tetraploides.

En la tabla I se presentan los datos de la inducción de fragmentos por metil, etil y butil celosolves así como la frecuencia que aparece en los testigos, notándose que en los resultados obtenidos con concentraciones entre 500 y 3000 ppm no hay diferencias significativas al aplicarles la prueba de "t" de Student a un nivel de significancia de 0.05. (Parker, 1976).

Con respecto a los huecos que se muestran en la tabla II, la prueba de "t" de Student permite considerar que no hubo diferencias de las frecuencias que aparecen en el grupo testigo con aquellas inducidas por los tres celosolves.

Habiéndose notado la aparición de células tetraploides se hizo el análisis estadístico comparativo (Tabla III) entre los testigos y los tratados con los celosolves a las mismas concentraciones que con fragmentos y huecos y tampoco se hallaron diferencias significativas con la "t" de Student, excepto en 3000 ppm de metil celosolve.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El análisis citogenético de las aberraciones se puede realizar en metafase y/o anafase (Kihlman, 1975); la primera es el estado en el que los cromosomas presentan mayor contracción, las dos cromátidas son observables y es posible reconocer con precisión las alteraciones, por lo que éste estado de la mitosis es el más adecuado para el estudio del daño producido al material genético (Evans y O'Riordan, 1975).

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación se puede apreciar que los tres celosolves aplicados no inducen aberraciones cromosómicas en los linfocitos humanos, lo que coincide con lo reportado por McGregor et al. (1983) y Miller et al. (1983) en médula ósea de rata a una concentración de 25 ppm, en donde se demostró que el metil celosolve no es un clastógeno, además de haber mostrado no ser mutagénico en Schizosaccaromyces pombe (Abbondandolo et al., 1980), en Salmonella typhimurium utilizando la prueba de Ames, en Drosophila melanogaster en la prueba de letales dominantes y de letales recesivos ligados al sexo (McGregor et al., 1983; Miller et al., 1983).

Es importante resaltar el hecho de que a pesar de que los celosolves provocan gran cantidad de disturbios fisiológicos y metabólicos en el hombre y animales de experimentación, tales como daño renal, alteraciones sobre el sistema nervioso central, acidosis metabólica excreciones de ácido oxálico y concreciones de oxalato de calcio (Peterson, 1963; Parry y Wallach, 1974;

Berman, 1975; Clay y Murphy, 1977; Gordon y Hunter, 1982; Marshall, 1982), Éstos no producen aberraciones cromosómicas, en el cultivo de linfocitos humanos, sin embargo existen agentes físicos y químicos que sí las provocan, induciendo lesiones en el ADN, siendo el resultado de errores en la reparación ("mis-repair") o en la replicación ("mis-replication") del ADN dañado (Evans y Scott, 1964, 1969; Brinkley y Hittelman, 1975; Kihlman, 1977; Kihlman et al., 1978). Dichos agentes se han clasificado en dos categorías: en la primera se incluyen entre otros, los agentes químicos y la radiación ultravioleta (Bender et al., 1973) los cuales reaccionan directamente con el ADN y sus precursores y requieren de la síntesis de ADN para manifestar el daño, es decir su efecto es S-dependiente, producen exclusivamente aberraciones de tipo cromatídico sin importar el periodo del ciclo celular en el que actúan (Evans y Scott, 1969; Kihlman et al., 1978). En la segunda categoría se encuentran entre otros, las radiaciones ionizantes y antibióticos tales como bleomicina, pleomicina y algunas oxipurinas metiladas (Kihlman, 1975), todos ellos provocan aberraciones de acuerdo con la etapa del ciclo celular que afectan, son cromosómicas las que se producen en G₁ y tienen como unidad de rompimiento al cromosoma; son cromatídicas cuando se altera en S, G₂ y profase fungiendo como unidad de rompimiento la cromátida y son subcromatídicas cuando el daño se induce en profase y la unidad de rompimiento es la media cromátida (Kihlman, 1966; Kihlman et al., 1978). La manifestación del daño por estos agentes no requiere de la síntesis de ADN por lo que su efecto es S-independiente (Kihlman, 1975, 1977; Evans, 1976;

Kihlman et al., 1978).

El hecho de que los celosolves no hayan producido aberraciones puede ser debido por un lado a que las concentraciones que se emplean en este trabajo no son suficientes para inducir las, sin embargo, no fue posible demostrar este hecho, puesto que concentraciones mayores abaten la división celular, lo que pone de manifiesto su citotoxicidad. Con relación a su efecto sobre el huso acromático, hubo efectos exclusivamente en el caso del metil celosolve en 3000 ppm ya que la frecuencia de células tetraploides fue significativamente mayor que en el testigo.

Por otro lado, los celosolves podrían tener un comportamiento promutagénico, es decir que por sí mismos no causan daño directo, sin embargo, se ha descrito en experimentos in vivo que los celosolves son capaces de hidrolizarse al alcohol del cual proceden y a etilenglicol (Flanagan y Libcke, 1964; Nitter-Hauge, 1970; Ohi y Wegman, 1978; Pedersen et al., 1980); o bien que después de ser hidrolizados a los dos compuestos anteriores, posteriormente son convertidos al ácido del alcohol correspondiente y a ácido oxálico (Stenger, 1971). Otros trabajos recientes indican que el metil, etil y butil celosolves pueden ser oxidados por las alcohol y aldehído deshidrogenasas hepáticas a los ácidos correspondientes (Miller et al., 1982, 1983), coincidiendo con lo establecido por Browning (1963) de que el metil y butil celosolves se oxidan a ácido metoxiacético y a butoxiacético, respectivamente. Ambos se han detectado como metabolitos en la orina de individuos expuestos a

los correspondientes celosolves (Anna-Karin y Steen, 1978). Si^milarmente Miller et al. (1983) han encontrado ácido metoxiacé^tico después de 48 horas de administrar oralmente metil celosol^vo a ratas machos y describen que este ácido debe ser el meta^bolito activo generado por el 2-metoxietanol y ambos compues^tos son inactivos en la prueba de Ames; lo cual demuestra que aparentemente no se trata de un mutágeno indirecto.

Con respecto a los huecos, que es una de las altera^ciones que se registraron y sobre los cuales existen grandes controversias en tomarlos como alteraciones estructurales o no, considero que son indicadores sensibles, pues se ha demos^trado en monitoreos sobre problemas de salud ocupacional que estas alteraciones y los rompimientos son igualmente informa^tivos para evaluar la exposición eventual a los agentes geno^tóxicos (Brogger, 1982; Maksvík y Boysen, 1982), evidenciando ambos daños al ADN, ya que son la manifestación de cualquiera de los mecanismos postulados para su producción.

El criterio tomado en el presente trabajo para dis^tinguir los huecos fue el establecido en la Conferencia de Chatham en 1971.

En lo que se refiere a los porcentajes de aberracioⁿes cromosómicas de los testigos obtenidas en este trabajo, los cuales se encuentran entre 3.0 y 7.5 % para fragmentos, entre 5.5 y 8.0 % para huecos y entre 0.5 y 1.5 para células poliploides, resultados que no coinciden con los obtenidos por otros investigadores cuyas frecuencias espontáneas son muy bajas con respecto a las mencionadas anteriormente, siendo los

rangos para fragmentos de 0.02 a 3.0 %, huecos de 0.0 a 2.1 % y para células poliploides de 0.60 %. Los datos anteriores corresponden a trabajos realizados en Europa y Estados Unidos de América (Bauchinger et al., 1976; Forni et al., 1976; 1980; Dehndt y Deminatti, 1978; Ivanov, 1978; Muneer, 1978; Nordenson et al., 1982). Sin embargo, hay mayor concordancia con los resultados descritos en estudios hechos en poblaciones latinoamericanas cuyos rangos de fragmentos y huecos van de 0.0 a 8.0 (Lessa et al., 1976; Garza y Leal, 1981; Frias et al., 1984).

Se observa que en todos los casos mencionados se presentan grandes variaciones individuales de acuerdo con la edad, sexo, hábitos, condiciones de cultivo, etc y una gran diversidad genética poblacional.

Las conclusiones generadas de los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que los celosolves no poseen efecto sobre los cromosomas de linfocitos humanos en cultivo y de acuerdo con los estudios reportados, los efectos sobre la fertilidad y el desarrollo embrionario son de más relevancia que los genéticos dejando manifiesta la importancia que tiene la realización de estudios con este tipo de sustancias que de una manera u otra reflejan el riesgo potencial al que están expuestas las personas que laboran en industrias que manejan todo tipo de disolventes, aunque los celosolves a las concentraciones probadas no producen daño genético es importante mencionar que si lo pueden tener a nivel fisiológico por lo que se deben seguir adecuadamente las normas de seguridad tanto de higiene como de construcción establecidas por los organismos

creados para ello.

Asimismo es evidente la utilidad que tiene el uso del cultivo de linfocitos humanos para evaluar el daño cromosómico producido por diferentes agentes tanto físicos como químicos, siendo uno de los sistemas biológicos más sencillos y confiables.

REFERENCIAS

- Abbondandolo, A., Bonatti, S., Corsi, G., Fiorio, R., Leporini, C., Mazzacaro, A. y Nieri, R. (1980). The use of organic solvents in mutagenicity testing. *Mutat. Res.* 79, 141-150.
- Anna-Karin, J y Steen, G. (1978). n-Butoxyacetic acid, a urinary metabolite from inhaled n-butoxyethanol (Butylcellosolve). *Acta Pharmacol. Toxicol.* 42, 354-356.
- Arakaki, D.T. y Sparkes, R.S. (1963). Microtechnique for culturing leukocytes from whole blood. *Cytogenetics* 2, 57-60.
- Bauchinger, M., Schmid, E., Einbrodt, H.J. y Dresch, J. (1976). Chromosome aberrations in lymphocytes after occupational exposure to lead and cadmium. *Mutat. Res.* 40, 57-62.
- Bender, M.A., Grigs, H.G. y Walker, P.L. (1973). Mechanisms of chromosomal aberration production. I. Aberration induction by ultraviolet light. *Mutat. Res.* 20, 387-402.
- Berman, L.B., Schreiner, G.E. y Freys, J. (1957). Nephrotoxic lesion of ethylene glycol. *Ann. Inter. Med.* 46, 611-613.
- Brecher, S. (1977). Ultrastructural observations of γ -ray induced chromatid gaps. *Mutat. Res.* 42, 249-268.
- Bregman, A.A. (1971). Cytogenetic effects of ethanol in human leukocyte cultures. *EWS Newsletter* 4, 35-36.
- Brinkley, B.R. y Hittelman, W.N. (1975). Ultrastructure of mammalian chromosome aberrations. *Int. Rev. Cytol.* 42, 49-101.
- Brogger, A. (1975). Is the chromatid gap a folding defect due to

- protein change?. Evidence from mercaptoethanol treatment of human lymphocyte chromosomes. *Hereditas* 80, 131-136.
- Brogger, A. (1982). The chromatid gap-a useful parameter in genotoxicology.. *Cytogenetic Cell. Genet.* 33,14-19.
- Browning, E. (1953). Toxicity of industrial organic solvents. Elsevier, Londres. pp. 600-612.
- Browning, E. (1965). Toxicity and metabolism of industrial solvents Elsevier, Londres. pp 390-415.
- Carpenter, C.P., Pozzani, U.C. y Weil, C.S. (1956). The toxicity of butil cellosolve solvent. *Arch. Ind. Health* 14, 114.
- Castillo, P. (1981). Efecto del acetato de etilo sobre los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba. Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Clay, K.L. y Murphy, R.C. (1977). On the metabolic acidosis of ethylene glycol intoxication. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 39, 39-49.
- Crossen, P.E. y Morgan, W.F. (1977). Proliferation of PHA and PWM stimulated lymphocytes measured by sister chromatid differential staining. *Cell. Immunol.* 32. 432-438.
- Dávila, C. (1981). Efectos producidos por el n-heptano en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de haba (Vicia faba). Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Deknudt, G. y Deminatti, M. (1978). Chromosome studies in human lymphocytes after in vitro exposure to metal salts. *Toxicol.* 10, 67-75.

- Devore, G. (1974). Química orgánica. Publicaciones culturales. México. pp.199,352.
- Donley, D.F. (1936). Toxic encephalopathy and volatile solvents in industry. *J. Ind. Hyg. Toxicol.* 18, 571.
- Doolittle, A.K. (1954). Technology of solvents and plasticizers. Wiley, Nueva York.
- Draize, J.H., Woodard, G. y Calvery, H.C. (1944). Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to skin and mucous membranes. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 82, 377-390.
- Duprat, P. y Gradiski, B. (1979). Percutaneous toxicity of methyl and butyl cellosolve (ethylene glycol monobutyl ether). *IRCS. Med. Sci.* 7, 1-26.
- El Batawi, M.A. (1971). Effects combined. En: *Encyclopaedia of occupational health and safety*. OIT, Ginebra. 1, 430-435.
- Evans, H.J. (1967). Repair and recovery from chromosome damage induced by fractionated ray exposure. En Radiation Research G. Sild. Ed. North Holland, Amsterdam. pp. 482-501.
- Evans, H.J. (1976). Cytological methods for detecting chemical mutagens. En: Chemical mutagens 4, edit. A. Hollaender Plenum Press, Nueva York, pp 1-10.
- Evans, H.J. y Scott, D. (1964). Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by rays and maleic hydrazide in Vicia faba. *Genetics* 49, 17-38.

- Evans, H. J. y Scott, D. (1969). The induction of chromosome aberrations by nitrogen mustard and its dependence on DNA synthesis. *Proc. Roy. Soc. London, Ser. B*, 173, 491-512.
- Evans, H. J. y O'Riordan, M. L. (1975). Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberration in mutagen test. *Mutat. Res.* 31, 135-148.
- Flanagan, P. y Libcke, J. H. (1964). Renal biopsy observations following recovery from ethylene glycol nephrosis. *Amer. J. Clin. Path.* 41, 171-174.
- Forni, A., Cambiaghi, G. y Secchi, G. C. (1976). Initial occupational exposure to lead. *Arch. Environ. Health* 31, 73-78.
- Forni, A., Sciame, A., Bertazzi, P. A. y Alessio, L. (1980). Chromosome and biochemical studies in women occupationally exposed to lead. *Arch. Environ. Health* 35, 139-145.
- Frias S., Carnevale, A. y Del Castillo, V. (1984). Utilidad de la prueba de exposici3n de linfocitos a mitomicina-C en el diagn3stico de anemia de Fanconi. *Rev. Invest. Clin.* 36, 219-224.
- Gartner, S. L. (1981). Methyl cellosolve-induced sensitization of mice to bacterial endotoxin. *Experientia* 37, 174-175.
- Garza, R. y Leal, C. (1981). Plomo y aberraciones cromos3micas. *Salud P3blica de M3xico* 23, 389-397.
- G3mez-Arroyo, S. (1974). Efectos producidos por varios alcoholes sobre los cromosomas de la ratz de Vicia faba. Tesis Facultad de Ciencias, UNAM. M3xico.

- Gómez-Arrouo, S. (1980). Efectos cromosómicos del tlner y algunos de sus principales componentes en Vicia faba. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Gordon, H.L. y Hunter, J.M. (1982). Ethylene glycol poisoning. Anesthesia 37, 332-338.
- Grant, J. (1944). Hackh's chemical dictionary. Blakiston. Filadelfia.
- Guadarrama, M.A. (1979). Inducción de mutaciones somáticas en Tradescantia con diferentes solventes. Tesis, Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Gutiérrez-Flores, R. (1975). Solventes industriales. Cuadernos científicos. CEMEF 2, 35-48.
- Hernández, R. (1977). Inducción de mutaciones somáticas en pelos estaminales de Tradescantia por vapores de metanol. Tesis, Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Hittelman, W.N. y Rao, P.N. (1974). Premature chromosome condensation. II. The nature of chromosome gaps produced by alkylating agents and ultraviolet light. Mutat. Res. 23, 259-266.
- Holmberg, B., Jakobson, I. y Malforms, T. (1974). The effect of organic solvents on erythrocytes during hipotonic hemolysis. Environ. Res. 7, 193-205.
- Jacobs, M.B. (1958). The handbook of solvents. D. Van Nostrand, Nueva York. 958 pp.
- Jasinska, J., Steffen, J.A. y Michalowski, A. (1970). Studies in vitro lymphocyte proliferation in cultures synchronized

- by the inhibition of DNA syntheses. II. Kinetics of the initiation of the proliferation response. *Exp. Cell Res.* 61, 333-341.
- Ivanov, B., Praskova, M., Mileva, M., Bulanova, M. y Georgieva, I. (1978). Spontaneous chromosomal aberration levels in human peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.* 52, 421-426.
- Kane, L.E., Dombroske, R. y Alarie, V. (1980). Evaluation of sensory irritation from some common industrial solvents. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 41, 451-455.
- Kasparov, A.A., Marinenko, E.T. (1972). Combined toxic effect of solvents. *J. Pharm. Sci.* 115, 26-29.
- Kawalek, J.C. y Andrews, A.W. (1980) The effect of solvents on drug metabolism in vitro. *Drug Metab. Dispos.* 8, 380-384.
- Kihlman, B.A. (1966). Actions of chemicals on dividing cells, Prentice Hall, Nueva Jersey.
- Kihlman, B.A. (1975). Root tips of Vicia faba for the induction of chromosomal aberrations. *Mutat Res.* 31, 401-412.
- Kihlman, B.A. (1977). Caffeine and chromosomes. Elsevier, Amsterdam.
- Kihlman, B.A., Natarajan, A.T. y Anderson, H.C. (1978). Use of the 5-bromodeoxyuridine-labelling technique for exploring mechanisms involved in the formation of chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 52, 181-198.
- Kirk, R.E. y Othmer, D.F. (1961). Solventes. En: Enciclopedia de tecnologia quimica. Tomo IV, UTEHA, México, pp. 848-858.

- Kustov, V.V. (1971). Efectos de las intoxicaciones industriales combinadas. *Medicina* 9, 128-161.
- Lee, K.H. y Wong, H.A. (1979). Toxic effects of some alcohol and ethylene glycol derivatives on *Cladosporium resinae* *Appl. Environ. Microbiol.* 38, 24-28.
- Lehman, K.B. y Flury, F. (1943). Toxicology and hygiene of industrial solvents. Williams y Wilkins, Baltimore. pp. 601-637.
- Lessa, J.M., Becak, W., Nazareth-Rabello, M., Pereira, C. y Ungaro, M.T. (1976). Cytogenetic study of DDT on human lymphocytes *in vitro*. *Mutat. Res.* 40, 131-138.
- López, G. (1980). Efectos producidos por el alcohol metílico en los cromosomas de células meristemáticas de la raíz de haba (*Vicia faba*). Tesis, Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Maksvík, H. y Boysen, M. (1982). Cytogenetic analyses of lymphocytes from nickel refinery workers. *Mutat. Res.* 103, 185-190.
- Marke, N., Siern, F. y Lajtha, A. (1975). Changes in proteolytic enzymes and proteins during maturation of the brain. *Brain Res.* 86, 307-310.
- Marshall, T.C. (1982). Dose-dependent disposition of ethylene glycol in the rat after intravenous administration. *J. Toxicol. Environ. Health* 10, 397-409.
- McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E y Ames, B.N. (1975). Detection of carcinogens and mutagens in the *Salmonella* / microsome test; assay of 300 chemicals. *Proc. Nat.*

- Acad. Sci. USA. 72, 5135-5139.
- McGregor, D.B., Willins, M.J., McDonald, P., Holmstrom, M.,
McDonald, D. y Niemeier, W. (1983). Genetic effects of
2-methoxyethanol and bis (2-methoxyethyl) ether.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 70, 303-316.
- Mellan, I. (1953). Industrial solvents. Reinhold Nueva York.
747 pp.
- Michaelis, A., Ramshorn, K. y Rieaer, R. (1959). Athylalkohol
radiomimetisches agens bei Vicia faba.
L. Naturwissenschaften 46, 381-382.
- Miller, R.R., Carreon, R.E., Young, J.T. y McKenna, M.J. (1982).
Toxicity of methoxyacetic acid in rats. Fundam. Appl.
Toxicol. 2. 158-160.
- Miller, R.R., Hermann, E.A., Languardt, P.W., McKenna, M.J. y
Schwertz, B.A. (1983). Comparative metabolism and
disposition of ethylene glycol monomethyl ether and
propylene glycol monomethyl ether in male rat.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 67, 229-237.
- Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellman, W.J., Battips, D.M. y
Hungerford, D.D. (1960). Chromosome preparations of
leukocytes cultures from human peripheral blood.
Exp. Cell Res. 20, 613-616.
- Morris, H.J., Nelson, A.A. y Calvery, H.O. (1942). Observations
on the chronic toxicities of propylene glycol,
ethylene glycol, mono-ethyl ether and diethylene
glycol mono ethyl ether. J. Pharmacol. Exptl. Therap.
74, 266-273.

- Morris, J.G. (1976). *Fisicoquímica para biólogos*. Reverté. México. pp.59-62.
- Morrison, T.R. u Boud. N.R. (1973). *Organic chemistry*. 3a. Ed. Allyn y Bacon, Boston.
- Muneer, R.S. (1976). Effects of LSD on human chromosomes. *Mutat. Res.* 51, 403-410.
- Nagano Y., Nakayama, E., Oobayashi, H. y Yamada, T. (1977). Testis disorders from cellosolve derivatives. *Rodo Eisei* 18, 24-27.
- Nagano, K., Nakayama, E., Oobayashi, M., Yamada, T., Adachi, H., Nishizawa, T., Ozawa, H., Nakaichi, M., Okuda, H., Minami, K. y Yamasaki, K. (1981). Embriotoxic effects of ethylene glycol monomethyl ether in mice. *Toxicology* 20, 335-343.
- Nitter-Hauge, S. (1970). Poisoning with ethylene glycol monomethyl ether. *Acta Med. Scand.* 188, 277-280.
- Nordenson, I., Nordstrom, S., Sweins, A. y Bechman, L. (1982). Chromosomal aberrations in lead-exposed workers. *Hereditas* 96, 265-268.
- Ohl, G. y Wegman, D.H. (1978). Transcutaneous ethylene glycol monomethyl ether poisoning in the work setting. *J. Occup. Med.* 20, 675-676.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (1977). Métodos utilizados para establecer niveles admisibles de exposición profesional a los agentes nocivos. Serie de informes técnicos, No. 601. Ginebra.

- OMS (Organización Mundial de la Salud). (1981). Efectos sobre la salud de las exposiciones combinadas en el medio de trabajo. Serie de informes técnicos No. 662. Ginebra.
- OSHA (Occupational Safety and Health Administration). (1979). United food and commercial workers international union. Washington. 72 pp.
- Parker, R.E. (1976). Estadística para biólogos. Omega, Barcelona. 131 pp.
- Parry, M.F. y wallach, R. (1974). Ethylene glycol monomethyl ether poisoning. Am. J. Med. 57, 143-150.
- Patty, F.A. (1963). Industrial hygiene and toxicology. Interscience Publishers, Nueva York. 1527 pp.
- Pedersen, L.M. Nielsen, G.D. y Cohr, K.H. (1980). Alcohol elimination rate after inhalation of oxitol (2-ethoxyethanol). Z.Rechtsmed 85, 199-203.
- Peterson, D.I., Peterson, J.E. y Hardinge, M.G. (1963). Experimental treatment of ethylene glycol poisoning. Jama 186, 169-171.
- Rosas, P. (1980). Inducción de alteraciones cromosómicas por el alcohol etílico en las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba. Tesis, Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Rowe, V.K. (1963). Glycols. En: Industrial hygiene and toxicology. Patty, F.A., Ed. Interscience. Nueva York. Vol. II. 360-390.

- Ryley, T.G. y Malcom, A. (1969). Sniffers get break... in chromosomes. *Medical World News* 10, 41.
- Satya-Prakash, K.L., Hsu, T.C. y Pathak, S. (1981). Chromatid lesions and chromatid core morphology. *Citogenet. Cell Genet.* 30, 248-252.
- Savolainen, H. (1980). Glial cell toxicity of ethyleneglycol monomethyl ether vapor. *Environ. Res.* 22, 423-430.
- Scheid, W. y Traut, H. (1971). Visualization of achromatic lesions (gaps) induced by x-rays in chromosomes of Vicia faba by staining of chromosomal proteins. *Mutat. Res.* 12, 97-99.
- Smyth, H.F., Weil, C.S., West, J.S. y Carpenter, C.P. (1969). An exploration of joint toxic action: twenty-seven industrial chemicals intubated in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 14, 340-347.
- Sorsa, M., Hemminki, K. y Vainio, H. (1982). Biologic monitoring of exposure to chemical mutagens in the occupational environment. *Terat. Carc. Mut.* 2, 137-150.
- Stenger, E.G., Aepli, L., Muller, D., Reheim, E. y Thomann, P. (1971). Zur toxicologie des athylenglykol-monoathylathers. *Drug Res.* 21, 880-885.
- Sunderman, F. y Sunderman, W. (1970). Toxicity from exposure to solvents. Laboratory diagnosis of diseases caused by toxic agents. San Luis Missouri. 592 pp.
- Taylor, J.H., Haut, W.F. y Tung, J. (1962). Effects of fluorodeoxiuridine replication, chromosome breakage and reunion. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 48, 188-198.

- Torres-Rufz, A. (1975). Manifestaciones clínicas en los usuarios y/o abusadores de volátiles inhalables. Cuadernos científicos CEMEF 2, 73-84.
- Wahlberg, J.E. y Boman, A. (1979). Comparative per cutaneous toxicity of ten industrial solvents in the guinea pig. Scand. J. Work Environ. Health 5, 345-351.
- Waite, C.P. y Vant, W.P. (1930). Acute response of guinea pigs to vapours of some new commercial organic compounds cellosolve (monoethyl ether of ethylene glycol). U.S. Publ. Health Rep. 45, 1459.
- Werner, H.W., Mitchell, J.L., Miller, J.W. y Van Oettingen, W.F. (1943). Acute toxicity of vapours of several monoalkyl ethers of ethylene glycol. J. Ind. Hyg. 25, 157.
- Wiley, F.H., Hueper, W.C., Bergen, D.S. y Blood, F.R. (1938). Formation of oxalic acid from ethylene glycol and related solvents. J. Ind. Hyg. Toxicol. 20, 269.
- Young, E.G. y Woolner, L.B. (1946). A case of fatal poisoning by 2-methoxyethanol. J. Ind. Hyg. Toxicol. 28, 267.
- Zavon, W.R. (1963). Methyl cellosolve intoxication. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 24, 36-41.

TABLA I
FRECUENCIA DE FRAGMENTOS POR CELULA INDUCIDOS POR
CELOSOLVES EN LINFOCITOS HUMANOS EN CULTIVO

CONCENTRACION	METILCELOSOLVE		ETILCELOSOLVE		BUTILCELOSOLVE	
(PPM)	$\bar{x} \pm e. e$	"t"	$\bar{x} \pm e. e$	"t"	$\bar{x} \pm e. e$	"t"
0	0.075 \pm 0.019		0.030 \pm 0.012		0.050 \pm 0.017	
500	0.060 \pm 0.017	0.416*	0.057 \pm 0.017	0.931*	0.075 \pm 0.019	0.500*
1000	0.095 \pm 0.021	0.500*	0.090 \pm 0.020	1.875**	0.040 \pm 0.014	0.548*
2000	0.105 \pm 0.022	0.730*	0.075 \pm 0.019	1.452*	0.080 \pm 0.019	0.638*
3000	0.125 \pm 0.023	1.190*	0.060 \pm 0.017	1.034*	0.075 \pm 0.019	0.500*

* P < 0.1

** 0.1 < P < 0.05

TABLA II
FRECUENCIA DE HUECOS EN CROMOSOMAS POR CELULA INDUCIDOS POR
CELOSOLVES EN LINFOCITOS HUMANOS EN CULTIVO

CONCENTRACION	METILCELOSOLVE		ETILCELOSOLVE		BUTILCELOSOLVE	
(PPM)	$\bar{x} \pm e. e$	"t"	$\bar{x} \pm e. e$	"t"	$\bar{x} \pm e. e$	"t"
0	0.080 \pm 0.019		0.035 \pm 0.016		0.091 \pm 0.022	
500	0.105 \pm 0.022	0.610 *	0.074 \pm 0.020	0.528 *	0.085 \pm 0.020	0.143 *
1000	0.135 \pm 0.024	1.280 *	0.048 \pm 0.015	0.322 *	0.070 \pm 0.018	0.525 *
2000	0.135 \pm 0.024	1.280 *	0.085 \pm 0.020	0.833 *	0.120 \pm 0.123	0.644 *
3000	0.150 \pm 0.025	1.590 *	0.115 \pm 0.022	1.579 *	0.080 \pm 0.019	0.268 *

* P < 0.1

TABLA III
FRECUENCIA DE CELULAS TETRAPLOIDES INDUCIDAS POR
CELOSOLVES EN LINFOCITOS HUMANOS EN CULTIVO

CONCENTRACION	METILCELOSOLVE		ETILCELOSOLVE		BUTILCELOSOLVE	
(ppm)	$\bar{x} \pm e. e$	"t"	$\bar{x} \pm e. e$	"t"	$\bar{x} \pm e. e$	"t"
0	0.015 \pm 0.008		0.005 \pm 0.005		0.011 \pm 0.008	
500	0		0		0	
1000	0.025 \pm 0.011	0.526*	0		0	
2000	0.045 \pm 0.015	1.304*	0.015 \pm 0.008	0.769*	0.010 \pm 0.007	0.670*
3000	0.085 \pm 0.020	2.500**	0.020 \pm 0.010	1.000*	0.005 \pm 0.005	0.461*

* P < 0.1

** P < 0.02 (P < 0.01)