



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

CARRERA DE BIÓLOGO

"Evaluación del daño cromosómico e índice mitótico
en linfocitos humanos de sangre periférica
tratados *in vitro* con acetato de talio"

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

HERIBERTO HERNÁNDEZ DE LA CRUZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. JUAN JOSÉ RODRÍGUEZ MERCADO

MÉXICO, D. F.

MAYO DEL 2011.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

CARRERA DE BIÓLOGO

**"Evaluación del daño cromosómico e índice mitótico
en linfocitos humanos de sangre periférica
tratados *in vitro* con acetato de talio"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A

HERIBERTO HERNÁNDEZ DE LA CRUZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. JUAN JOSÉ RODRÍGUEZ MERCADO

MÉXICO, D. F.

MAYO DEL 2011.



Esta tesis fue realizada bajo la dirección del **Dr. Juan José Rodríguez Mercado** dentro de la Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental (UNIGEN), cuyo responsable es el Dr. Mario Agustín Altamirano Lozano; en el laboratorio L-5 PA de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental (UMIE) de la FES-Zaragoza, Campus II, UNAM.

Durante el desarrollo de ésta investigación se recibió el apoyo de **PAPIIT-DGAPA, proyecto IN-216809.**

AGRADECIMIENTOS AL JURADO

Agradecimientos a cada miembro del jurado, por su dedicación en la revisión de esta tesis y por las observaciones que han sido importantes para su mejoría.

PRESIDENTE M. C. RAÚL ZAVALA CHAVERO

VOCAL DR. JUAN JOSÉ RODRÍGUEZ MERCADO

SECRETARIO DR. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO

SUPLENTE DRA. LUCILA ÁLVAREZ BARRERA

SUPLENTE DRA. MA. DEL CARMEN GARCÍA RODRÍGUEZ



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E.**

Comunico a usted que el alumno **HERNÁNDEZ DE LA CRUZ HERIBERTO**, con número de cuenta **402081401**, de la carrera de Biología se le ha fijado el día **03** del mes de **mayo** de 2011 a las **14:00 hrs.** para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

- PRESIDENTE M. C. RAÚL ZAVALA CHAVERO
- VOCAL DR. JUAN JOSÉ RODRÍGUEZ MERCADO
- SECRETARIO DR. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO
- SUPLENTE DRA. LUCILA ÁLVAREZ BARRERA
- SUPLENTE DRA. MA. DEL CARMEN GARCÍA RODRÍGUEZ

[Handwritten signatures of the jury members]

El título de la tesis que presenta es: **Evaluación del daño cromosómico e índice mitótico en linfocitos humanos de sangre periférica tratados in vitro con acetato de talio.**

Opción de titulación: tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
 México, D. F., a 28 de marzo de 2011.
ZARAGOZA DIRECCIÓN
Dr. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
 DIRECTOR



[Handwritten signature of Dr. Carlos Castillejos Cruz]
 VO. BO.
 Dr. CARLOS CASTILLEJOS CRUZ
 JEFE DE CARRERA

RECIBÍ
 OFICINA DE EXÁMENES
 PROFESIONALES Y DE GRADO

AGRADECIMIENTOS A FAMILIARES Y AMIGOS

Gracias a dios por todo en esta vida

A mis padres el Sr. Fructuoso Hernández Ruperto y a mi madre la Sra. Teófila de la Cruz Hernández por todo el apoyo que me han brindado hasta el último momento, que con su incansable esfuerzo, trabajo y valores han colaborado en lo que un día fue un sueño hoy sea una realidad.

A mis hermanos: Ricardo, Sabina, Alejandro, Víctor y Fernando Hernández De la Cruz, quienes siempre han estado con migo en cada instante de mi vida, y llevo en el corazón por siempre así como mis sobrinos a quien tanto quiero.

A el único y verdadero amor Norma Cadena Flores, gracias corazón por todos los bellos momentos, por ayudarme a descubrir tantas cosas hermosas, por la felicidad que me das siempre y por todo el tiempo que hemos pasado juntos por el apoyo incondicional y también por nuestro hijo Alexander Hernández Cadena por el cariño y ternura que nos da.

A mis abuelitos: Placido de la Cruz, Gabina Hernández, y Raymunda Ruperto.

A mis padrinos: Humberto Pérez M. e Irene Cruz Rosas por sus consejos y apoyo moral en el transcurso de mi vida.

A mis tíos Francisco Hdez. R. y Tomas de la Cruz.

A mi primo: Raúl Pérez Hdez. y a mis familiares quienes la distancia y las circunstancias alejaron hasta el día de hoy, en recuerdo de los buenos momentos y la felicidad que algún día compartimos. Les deseo bienestar. .

A quienes ya no están con migo, mis abuelitos Agustín Ruperto, Andrés Hernández, mi hermano Bulmaro Hernández, mi tío Diego de la Cruz, a mi Primo Arnulfo.

A las personas que me apoyaron de manera directa e indirecta en el camino recorrido de esta etapa de mi vida en donde quiera que estén gracias

Al laboratorio de Genética y toxicología ambiental (UNIGEN), y el equipo de trabajo conformado por Dr. Mario Altamirano Lozano, Dr. Juan José Rodríguez Mercado y Dra. Lucila Barrera. A los Biólogos, Carlos Zúñiga, y Rodrigo Aníbal Quienes han colaborado en mi experiencia en el campo de la investigación y por todo o su apoyo moral Gracias.

A la UNAM FES ZARAGOZA por la excelencia educativo y la formación que me ha brindado para ser un profesionista comprometido con el desarrollo de mi país, Estados Unidos Mexicanos.

Gracias a dios por darme todo lo suficientes y por la oportunidad de ser un biólogo al servicio de la vida

Gracias a los años y la vida por toda la experiencia que dan y cuidar a mis seres queridos y a los que me rodean así como a los que estimo y aprecio mucho pido a dios que siempre les cuide y de bienestar.

Atte.

Heriberto Hernández de la Cruz

Pensamientos...

Soñar despierto no requiere de esfuerzo y que la distancia que hay con la realidad está más cercana, por el cual debes buscar y alcanzar tus sueños.

Una sonrisa puede arrancarte el mal humor y mejorar tu vida a cada día pero sobre todo es la mejor carta de presentación.

Las actitudes buenas se transmiten y contagian teniendo el poder de realizar acciones de magnitudes increíbles y así podemos contagiar y mejorar al mundo.

En la vida existen cosas maravillosas del cual se desconocen y un día alguien te ayuda a descubrirlo sobre y que tu eres parte de lo maravilloso de la vida.

Aprovecho para hacerte saber a ti. Norma Cadena Flores. Que te amo con verdadera pasión. Gracias por estar con migo en todas las formas y hacer de mi un hombre afortunado eso jamás lo olvides y a mi hijo Alexander Hernández Cadena quien es mi orgullo y mi vida quiero decirte que siempre estaremos juntos como familia, los amo.

Aquí en la UNAM aprendí que tener una profesión es una responsabilidad para el desarrollo personal y de la nación y no una herramienta para el ejercicio del beneficio personal, gracias a esta institución México se ha podido desarrollar y deseo que su trascendencia continúe por siempre.

Gracias

*Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Universidad Nacional Autónoma de México*

"Goooooya Universidad"

ÍNDICE

1.	ABREVIATURAS	1
2.	RESUMEN	2
3.	INTRODUCCIÓN	4
4.	MARCO TEÓRICO	6
4.1.	Talio.....	6
4.1.1	Acetato de talio.....	9
4.1.2	Usos del talio y contaminación	10
4.1.3	Toxicocinética del talio.....	14
4.1.4	Efectos en la salud.....	17
4.1.5	Intoxicación y antídotos.....	18
4.1.6	Efectos citotóxicos y mutagénicos.....	18
4.2.	Ciclo celular.....	20
4.3.	Sangre y el linfocito como modelo de prueba	25
4.4	Aberraciones cromosómicas estructurales.....	27
4.5	Aberraciones cromosómicas numéricas.....	31
4.6	Asociaciones satélite.....	32
5.	JUSTIFICACIÓN	34
6.	HIPÓTESIS	35
7.	OBJETIVOS	36
7.1.	General.....	36
7.2.	Particulares.....	36
8.	MATERIAL Y MÉTODO	37
8.1	Cultivo de linfocitos.....	37
8.2	Análisis estadístico.....	39
9.	RESULTADOS	41
10.	DISCUSIÓN	50
11.	CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES	57
12.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
13.	ANEXO	69

ABREVIATURAS

1. ABREVIATURAS

\bar{x}	Media
AC	Aberraciones cromosómicas
ACE	Aberraciones cromosómicas estructurales
ACN	Aberraciones cromosómicas numéricas
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AS	Asociaciones satélite
EE	Error estándar
EPA	Environmental Protection Agency (Agencia de protección al ambiente)
G ₁	Primer brecha del ciclo celular
G ₂	Segunda brecha del ciclo celular
ICH	Intercambio de cromátidas hermanas
IM	Índice mitótico
S	Fase S del ciclo celular
TI	Talio
CAS	Chemical Abstracts service (número de registro como compuesto químico)

2. RESUMEN

El talio (Tl) fue descubierto por Williams Crookes en 1861, desde entonces se conoce de su toxicidad. En la actualidad por el riesgo que representa para la salud humana así como por los efectos adversos que produce en los organismos, es comparado con metales de elevada toxicidad como el cadmio, níquel, mercurio y plomo. El talio es considerado un contaminante ambiental y ocupacional, además por su amplio uso representa riesgo terapéutico y doméstico. Predomina en dos estados de oxidación Tl^{3+} y el más estable Tl^+ que por su parecido con cationes como el potasio (K^+) puede atravesar barreras biológicas e ingresar al metabolismo de los organismos acumulándose en diversos órganos donde es capaz de alterar la función de las ATP-asas de sodio y potasio, el intercambio iónico de la permeabilidad de la membrana celular, interaccionar con los grupos sulfhidrilo de proteínas, e intervenir con la función de ribosomas y con la síntesis de proteínas, además, en mitocondria alterar la cadena respiratoria.

Estudios en personas intoxicadas demuestran que el Tl^+ es cardiotoxico, neurotóxico y en animales de experimentación embriotóxico, sin embargo los mecanismos de acción aún son desconocidos, al igual que los efectos genotóxicos y clastogénicos. Por lo tanto para comprender sus efectos, el objetivo de este estudio se enfocó en la evaluación del daño cromosómico y sobre la proliferación celular, utilizando el modelo de linfocitos humanos tratados *in vitro* con acetato de talio (CH_3COOTl).

Para el método se tomaron muestras de sangre periférica de tres individuos que no revelaron exposición a algún agente mutágeno. Se realizaron cultivos de linfocitos humanos y se trataron a las 24 hrs con las concentraciones de 0, 0.5, 1, 5, 10, 50 y 100 $\mu g/mL$ acetato de talio, se cosecharon las células transcurridas las 48 hrs y se montaron en portaobjetos para su análisis al microscopio. Los parámetros evaluados fueron el índice mitótico (IM), las aberraciones cromosómicas estructurales (ACE), aberraciones cromosómicas numéricas (ACN) y las asociaciones de satélites (AS).

RESUMEN

Los resultados demostraron que el talio en todas las concentraciones probadas disminuye la proporción de células en mitosis con un comportamiento dosis-dependiente y en 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ la inhibición de la proliferación es cercana al 100%. Las diferencias estadísticas aparecen a partir de la concentración de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para los tres donadores (A, B y C).

En la evaluación de la frecuencia de ACE se encontró incremento significativo ($P < 0.5$) así como el porcentaje de células aberrantes en 1 y 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. En las concentraciones de 50 y 100 la elevada toxicidad celular impidió el análisis de aberraciones. En los valores de ACN fueron bajas y los incrementos de hipoploidías se presentaron en 0.5 y 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, en hiperploidías solo apareció 1 en el donador C en 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y las poliploidías al menos 1 se observó en cada cultivo, para el porcentaje células con ACN las heteroploidías se encontraron en la concentración de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de los donadores A con $P < 0.01$ y para C con $P < 0.005$.

En las AS de los cromosomas del grupo D y G asociados así como la suma D+G, se observaron diferencias estadísticas en 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para los donadores B y C, de la misma manera sucede con los valores en el porcentaje de células con AS, de los donadores A y B con $P < 0.005$, mientras que otras concentraciones no revelan diferencias estadísticas importantes

Los datos obtenidos de las evaluaciones demuestran que el acetato de talio disminuye el IM e incrementa la frecuencia de ACE con un comportamiento dependiente de la concentración. Los resultados de la frecuencia de ACN indican que en concentraciones de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ posiblemente el talio puede tener efectos aneuploidógenos. Por lo anterior podemos concluir que el acetato de talio induce toxicidad celular y daño cromosómico, es decir, tiene efectos genotóxicos.

3. INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo de las primeras civilizaciones humanas, los metales han sido muy importantes, además trascendentales para el modo de vida. Con el tiempo determinaron el rumbo de las sociedades antiguas por sus amplias aplicaciones como herramientas de trabajo, utensilios y armas (HNAPO 1991). Mientras que en la actualidad otros metales se han descubierto con múltiples aplicaciones que demandan mayor producción cuyos efectos son tóxicos, cancerígenos y mutagénicos en seres vivos (ATSDR 1995, Galvan-Arzate y Santamaría 1998, Facchinelli *et al* 2001, Jha 2006).

Los metales se encuentran distribuidos en todo nuestro planeta. Pocos tienen un papel esencial como micronutrientes en la vida de los seres vivos, como el calcio, cobalto, cobre, hierro, magnesio, manganeso, níquel y zinc. En la célula catalizan reacciones, son mediadores del metabolismo, estabilizan macromoléculas, participan en el transporte de oxígeno en la hemoglobina y están involucrados en el proceso de traducción de señales entre otros procesos celulares como lo reportan (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006). Sin embargo en concentraciones altas algunos de ellos tienen efectos adversos a la salud (Leónard y Gerber 1997) ya que algunos agentes químicos tienen la habilidad de alterar los procesos celulares, la bioquímica del metabolismo y la capacidad de inducir enfermedades degenerativas, cáncer e incluso la muerte (Valko *et al* 2005), mientras que de otros metales se ignoran sus efectos.

Algunos estudios demuestran que los metales son capaces de producir radicales cuya reactividad causa daño al ADN, oxidación en lípidos como el hierro, cobre, cadmio, cromo, mercurio, níquel y vanadio (Robson 2003, Valko *et al* 2005), mientras que los organismos se desarrollan ante esta amenaza en el ambiente, cuyo incremento es resultado de todas las actividades industriales y de manufactura como sucede con el TI (Bingham *et al* 2001, Facchinelli *et al* 2001, Zhang 2006, Jha *et al* 2006, Chen *et al* 2009).

INTRODUCCIÓN

En el ambiente las concentraciones de TI derivan de procesos industriales de refinerías, fundidoras, pesticidas, hidrocarburos así como del uso de la aplicación de isotopos radioactivos y sales tóxicas (Allus *et al* 1987, Facchinelli *et al* 2001, Zhang 2006, Chen *et al* 2009), que liberan partículas a la atmosfera y alcanzan a todos los organismos siendo acumulables y persistentes (Jiménez 2001), capaces de envenenar a sistemas hidrológicos, terrestres y atmosféricos, ocasionando graves daños con consecuencias desastrosas (Migliori *et al* 1999, Wierzbicka *et al* 2003, Chen *et al* 2009),

El TI es un agente metálico, tóxico que amenaza el ambiente y la biología de todos los organismos. Por otro lado, la toxicología genética ofrece a través de estudios *in vivo* e *in vitro* revelar los efectos que producen estas sustancias dañinas utilizando pruebas como las citogenéticas entre las que se encuentran las aberraciones cromosómicas y el índice mitótico para detectar efectos genotóxicos y de daño celular.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Talio

El talio (Tl) es un metal tóxico capaz de dañar a plantas y animales (Cvjetko *et al* 2010) de color blanco-azulado, se encuentra distribuido en pequeñas cantidades en la corteza terrestre y aún no se ha descrito si tiene un papel esencial en el metabolismo. Sin embargo se emplea en reacciones químicas como catalizador, en cristales para lentes, prismas, instrumentos de infrarrojo, celdas fotoeléctricas, en termómetros de baja temperatura, en la elaboración de lentes ópticos, en joyería, en amalgamas y aleaciones de plomo y plata como materiales anticorrosivos, entre otras aplicaciones.

El Tl en su forma más estable se dispone como Tl^+ , pero también se encuentra en su estado de oxidación III (Tl^{3+}), en ambos casos es considerado muy tóxico (Galván-Arzate y Santamaría 1998). Varios compuestos como el acetato de talio, sulfato de talio y nitrato de talio son inodoros, incoloros e insípidos. También se le encuentra combinado con no metales como bromo, cloro, flúor, iodo y oxígeno entre otros formando diferentes sales. El Tl y sus múltiples compuestos por su toxicidad se emplean en herbicidas en la agricultura y en productos de uso cotidiano, como agente rodenticida, fungicida e insecticida (Leónard y Gerber 1997, Jiménez 2001).

Se sospecha que el grado de toxicidad del Tl esta en un rango cercano al producido por el plomo, mercurio y cadmio (Borgmann *et al* 1998, Wierzbicka *et al* 2003). Estos niveles de toxicidad del Tl se pueden estudiar a través de los modelos celulares como el linfocito para evaluar daños y efectos genotóxicos en pruebas citogenéticas e identificar agentes clastógenos por ser un indicador sensitivo a daños cromosómicos. En pruebas como son las aberraciones cromosómicas (AC) y revelar efectos en el material genético (Tucker y Preston 1996, Pfeiffer *et al* 2000). Además produce problemas de salud como el cáncer, abortos en poblaciones expuestas, y ayuda a detectar agentes mutágenos, cancerígenos y teratógenos (Albertini *et al* 2000, Cuenca y Ramírez 2004).

MARCO TEÓRICO

Antecedentes del talio

El elemento talio del griego θαλλεω (ponerse verde) y θαλλος (rama verde), fue descubierto en 1861 de forma independiente por Crookes (Tsai 2006) a través del recientemente descubierto método de espectrometría por flama publicado por Robert Bunsen y Gustav kirchhoff. Ya que este metal se encontró con impurezas asociado a otros minerales. Desde finales del siglo XIX hasta los primeros años del siglo XX, las sales de talio se emplearon para tratar las enfermedades como la sífilis y malaria así como, para reducir sudores nocturnos en enfermos de tuberculosis, en la depilación del bello del cuerpo, para tratar la enfermedad de la tiña del cuero cabelludo, como agente venenoso para combatir algunas plagas como ratas, ratones, roedores e insectos (Heydlauf 1969, Romero *et al* 1989, Leónard y Gerber 1997), con el tiempo se ampliaron sus aplicaciones en diferentes aéreas de la química y la física (Kenneth *et al* 1989). Sin embargo a pesar de conocerse como agente venenoso en la actualidad se siguen reportando casos de intoxicaciones agudas, y graves por diferentes tipos de exposición laboral, ocupacional y alimenticia con este agente químico venenoso (John-Peter y Viraraghavan 2008, Tsai 2006, US ACHPPM 2007).

Propiedades físicas y químicas

El Tl es un metal pesado clasificado en el grupo III-A de la tabla periódica, de número atómico 81, peso molecular 204.383, valencia 1 y 3, configuración electrónica [Xe] 4f¹⁴ 5d¹⁰ 6s² 6p. Con dos isótopos naturales el Tl²⁰³ y el Tl²⁰⁵ con abundancia de 29.5% y 70.5% respectivamente, el Tl es el sesenta y cuatroavo elemento más abundante en la corteza terrestre y presenta varios isótopos sintéticos (191-202, 204, 206-210), mientras que Tl²⁰¹ es empleado para una variedad de imágenes del miocardio en la medicina nuclear (Yildirim *et al* 2005). Es de color blanco azulado, maleable, tiene densidad de 11.85 g/cm³, punto de volatilidad de 174°C, punto de fusión de 303.5°C, punto de ebullición 1457°C, calor latente de fusión 5.04 cal/g, radio atómico en picometros 171.0, reacciona con ácido nítrico o sulfúrico, difícilmente con ácido clorhídrico y forma óxidos con el aire, en su

MARCO TEÓRICO

forma pura se emplea en la elaboración de aleación de amalgamas con mercurio (Budavari *et al* 1996, Pau 2000).

Las sales de Tl en su mayoría son de elevado peso molecular, solubles, inodoras, insípidas e incoloras así como extremadamente tóxicas estos son aspectos de elección como candidatos para causas de homicidios por envenenamiento desde inicios del siglo XX (Tromme 1998, Delvalls *et al* 1999, Lu *et al* 2007). Este uso se extendió durante las guerras como arma química y en la actualidad se continúa registrando casos de envenenamiento intencional y suicida con este agente químico (Montoya *et al* 1985, Rangel-Guerra *et al* 1990, US ACHPPM 2007, TJFE 2008). Los efectos dañinos en la salud humana son muy diversos con igual efecto para el ambiente incluyendo la vida silvestre (Galvan-Arzate y Santamaría 1998). Entre estas sales se encuentra el acetato de talio y otros compuestos estables con el talio con características particulares aunque todos tóxicos y se muestran en el **Cuadro I**.

4.1.1. Acetato de talio

El acetato de talio (CH_3COOTl , CAS 563-68-8), está constituido de 77.59 % de Tl como metal, forma cristales delicuescentes de color blanco, de peso molecular 263.43 g/mol, muy soluble en agua y alcohol (**Figura 1**) (Budavari *et al* 1996). Desde inicios el siglo pasado el acetato de talio se empleo en como cosmético antidepilatorio a pesar de conocerse su toxicidad (Kenneth *et al* 1989). Es un compuesto incoloro e inodoro considerado venenoso para el humano y en dosis cercanas a 20 mg/Kg pueden ser fatales (Jiménez 2001). La dosis letal media en perros administrada oralmente es de 18.5 mg/Kg, en tanto que para ratón o rata son 35.2 y 41.3 mg/Kg, respectivamente (Carson *et al* 1987, Budavari *et al* 1996, NJDHDS 2000).

MARCO TEÓRICO

CUADRO I. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL TALIO Y DE SUS PRINCIPALES COMPUESTOS

Nombre del compuesto	CAS	Formula química	PM g/mol	Punto de fusión (°C)	Punto de ebullición (°C)	Solubilidad (H ₂ O g/L)	Color	Densidad (g/cm ³)
Talio metálico	7440-28-0	Tl	204.38	303.5	1457	Insoluble	Blanco azulado	11.85
Acetato de talio (I)	563-68-8	CH ₃ COOTl	263.43	131	Nd	Muy soluble	Blanco	3.765
Bromuro de talio	7789-40-0	TlBr	284.29	480	815	0.5 (25 °C)	Amarillo pálido	7.557 (17.3°C)
Carbonato de talio (I)	29809-42-5	Tl ₂ CO ₃	468.78	273	Nd	40.3 (15.5 °C)	Blanco	7.110
Cloruro de talio (I)	7791-12-0	TlCl	239.84	430	720	Muy soluble (20.° C)	Blanco	7.004 (30 °C)
Etilato de talio	20398-06-5	TlOC ₂ H ₅	249.44	-3	Se descompone a 130°C	Nd	Incoloro	3.493 (20°C)
Fluoruro de talio	7789-27-7	TlF	223.38	327	655	786 (15 °C)	Incoloro	8.23 (4°C)
Hidróxido de talio	1310-83-4	TlOH	221.39	139	Nd	259	Amarillo pálido	Nd
Nitrato de talio (I)	10102-45-1	TlNO ₃	266.39	206	430	95.5 (20 °C)	Blanco	Nd
Nitrato de talio (III) trihidratado	13453-38-8	Tl(NO ₃) ₃ + 3H ₂ O	444.44	105-107	Se descompone	Nd	Incoloro	Nd
Oxido de talio (I)	1314-12-1	Tl ₂ O	424.77	300	1080 (-0)	Se descompone a TlOH	Black	9.52 (16°C)
Oxido de talio (III)	1314-32-5	Tl ₂ O ₃	456.76	717± 5	875	Insoluble	Negro	10.19 (22°C)
Oxido de talio (III)	1314-32-5	Tl ₂ O ₃	456.76	717 ± 5	875	Insoluble	Negro	10.19 (22 °)
Selenita de talio (I)	12039-52-0	Tl ₂ SeO ₃	535.72	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Sulfato de talio	7446-18-6	Tl ₂ SO ₄	504.82	632	Se descompone	48.7 (20 °C)	Blanco	6.77
Sulfato de talio aluminio	52238-56-9	TlAl(SO ₄) ₂ + 12H ₂ O	639.66	91	Nd	117.8	Incoloro	2.306
Sulfuro de talio	1314-97-2	Tl ₂ S	440.85	448.5	Nd	0.2 (20 °C)	Nd	8.46
Tricloro de talio (III)	13453-32-2	TlCl ₃	310.74	25	Se descompone	Muy soluble	Incoloro	Nd
Tricloro de talio tetrahidratado	13453-33-3	TlCl ₃ + 4H ₂ O	382.80	37	100 (- H ₂ O)	862	Incoloro	Nd
Yoduro de talio	7790-30-9	TlI	331.29	440 (B)	823 (B)	0.006 (20°C)	Amarillo	7.29

CAS del sus siglas en ingles; Chemical Abstracts Service.

Nd = no hay datos.

Elaborado a partir de: IPCS 1992, 1996, OEHHACEPA 1999, IRIS 2008, CAS 2011).

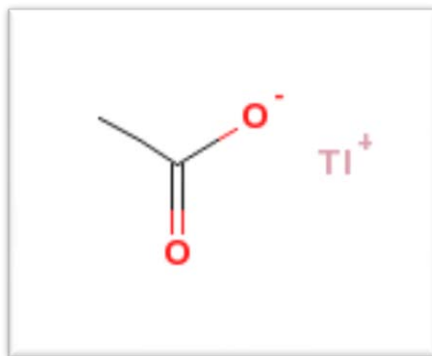


Figura 1. Estructura química del acetato de talio (NCBI 2011).

4.1.2. Usos del talio y contaminación

En las cartas de registro químico se tienen más de 150 aplicaciones para Tl y sus compuestos. Además de todos los usos y aplicaciones, este metal en el siglo XVIII fue usado en el tratamiento de enfermedades como la tuberculosis, sífilis, tiña y malaria. Sin embargo, debido a que es un agente muy tóxico y venenoso para los organismos, se ha empleado también como agente para cometer homicidio (Rusyniak *et al* 2002). Debido a estas consecuencias se prohibieron sus usos y aplicaciones desde 1975 en estados unidos y poco después en otros países como medida de seguridad, desafortunadamente en México las sales de talio en lo que respecta a su venta no se encuentra legislada mientras que por su uso principal se dispone de fácil acceso en el mercado libre como agente raticida (Romero *et al* 1989, Jha 2006, Tsai 2006).

Actualmente en algunos países el Tl se emplea para manufacturar joyas, producir termómetros de baja temperatura, espectrofotómetros y detectores infrarrojos, como material semiconductor, medidor de cuantificación de radioactividad (Léonard y Gerber 1997, Delvalls *et al* 1999, Kazantzis 2000, EPA 2009) y por sus propiedades también se emplea como un emulante para investigar las funciones biológicas de iones de metales alcalinos especialmente K⁺ y Na⁺ (Kazantzis 2000), sin embargo se incrementa la contaminación por este agente químico. En algunas ciudades de Europa y Estados Unidos el Tl se encuentra considerado dentro de la lista de sustancias más peligrosas (Daniel *et al* 2002, EPA 2009).

MARCO TEÓRICO

Concentración en el ambiente

Las concentraciones de Tl en el ambiente consideradas naturales a nivel global se estiman en un rango de 0.013 a 0.7 ppm (Delvalls *et al.* 1999), mientras que en algunos lugares del mundo estas concentraciones se han incrementado en la atmosfera a causa de procesos industriales que involucran algún manejo de este metal que llega a contaminar el agua, suelo y aire (Mitchell *et al* 2007, Jhon Peter and Viraraghavan, 2008), mientras que en otras zonas naturales la contaminación por Tl es mayor a causa de rocas minerales de Tl (Sturini *et al* 2009).

También, se han encontrados minerales con altas concentraciones de Tl en su constitución, como en zonas de la República de Macedonia (ex Yugoslavia) donde existen piritas formadas por sulfuro de hierro con talio, como es la lorandita ($TlAsS_2$), la crookesita $[(Cu, Ag, Tl)_2 Se]$, y la hutchinsonita ($TlPbAs_5S_9$) constituidas en concentraciones de Tl mayores a 60% de su composición (IPCS 1992 y 1996, Mochizuki *et al* 2005, Tremel 1996).

Concentración en agua

En agua de mar el contenido de Tl es menor del 0.02 $\mu g/L$, en ríos menor a 1 $\mu g/L$ y en manantiales volcánicos y aguas termales la concentración de este elemento se encuentra en el intervalo de 0.25 a 0.6 $\mu g/L$ (IPCS 1996). En agua potable se estima que la concentración no debe exceder las 2 ppb (John-Peter y Viraraghavan 2008). En análisis de aguas residuales acumuladas en un lago, se reportan la concentración en partículas disueltas de 0.41 $\mu g/L$ (IPCS 1996).

Los valores de concentración de Tl en agua contaminada, son opuestos a los determinados en aguas provenientes de lugares sin actividad humana e industrial; en Estados Unidos de América (OEHHACEPA 1999) la contaminación de Tl es monitoreada por la Agencia de Protección al Ambiente (EPA, de sus siglas en ingles Enviromental Protection Agency) a causa de precipitación de partículas suspendidas en el aire, producto de actividades industriales, donde estas partículas alcanzan las capas del suelo y contaminan los cuerpos de agua naturales en cercanías a fuentes emisoras. Los análisis realizados a los muestreos de cuerpos de agua muestran que las descargas

MARCO TEÓRICO

industriales mantienen rangos de 2 mg/L a 2 g/L (Jiménez 2001), a estas zonas de muestreo de agua contaminada se les clasifica como sitios de alto riesgo, por el peligro que representa en los ecosistemas (IPCS 1992, Tremel *et al* 1996, OEHHACEPA 1999; Radic *et al* 2008).

Concentraciones en aire

En ciudades de Europa se han reportado concentraciones de 0.06 ng de Tl particulado/m³ en aire, mientras que, para el norte de América la media es de 0.22 ng/m³ y un rango que va de 0.1 a 30 ng/m³ (IPCS 1996). En Inglaterra se han detectado niveles de 0.07 a 6 mg Tl/kg en áreas urbanas de mayor contaminación. En Italia los niveles más bajos fueron de 1 ng/m³ y en el aire se encontraron de 15 y 14 ng/m³ y con niveles máximos de 58 ng/m³. En polvo suspendido del aire cerca plantas de energía se encontró al menos 0.08 % de partículas menores de 5 µm de diámetro conteniendo concentraciones de Tl de 45 mg/kg (IPCS 1992, Tremel *et al* 1996, OEHHACEPA 1999, Radic *et al* 2008).

La emisión de Tl sobre la atmosfera por quema de carbón, procesos y actividades humanas involucradas con este metal incrementan sus concentraciones (Jhon-Peter y Viraraghavan 2008), forman un recurso antropogénico donde se han detectado concentraciones atmosféricas que van de 700 µg/m³ a 2500 µg/m³ en las emisiones de plantas cementeras, ya que el talio se volatiliza durante la quema de carbón y materiales crudos durante la producción de cemento se condensan las cenizas en la superficie del suelo, y contienen 50 µg de talio en las partículas aunque por su tamaño se facilita que puedan ser asimiladas por las raíces de vegetales y por las vías respiratorias de animales de crianza al igual que en humanos con la posibilidad de acumularse y originar daños severos e irreversibles (IPCS 1996, Léonard y Gerber 1997).

Fuentes de contaminantes de talio

El Tl se obtiene como producto minero de refinación y separación por técnicas diversas cuando se encuentra asociado a minerales de hierro, cadmio, zinc, acero, la quema de combustibles, residuos de la industria como la cristalería, la aleación metalúrgica, la

MARCO TEÓRICO

producción cementera (Pau 2000, Cheng-Hang y Tser-Sheng 2005), y en segundo término el procesamiento para cristalería con fines ópticos, para joyería, material de laboratorio, en la manufacturación de venenos e insecticidas a base de Tl para combatir plagas, su uso en laboratorios de imágenes al corazón empleado como isotopo radioactivo. Por todo esto el uso del Tl y el crecimiento de la población mundial por sus aplicaciones demandan una mayor producción y distribución que día a día crece, por ejemplo tan solo en Estados Unidos de América se estima que aproximadamente 1000 toneladas de Tl son lanzadas o descargadas al ambiente anualmente como residuos de la actividad industrial (Leónard y Gerber 1997, OEHHACEPA 1999).

Concentración en suelo

La abundancia de Tl en suelos naturales del planeta se ha estimado que va de 0.1 a 1.7 mg/Kg peso en seco. En China se calcula que hay alrededor de 0.11 mg/Kg, de Tl en muestras de suelos de jardines de casa (IPCS 1992, Tremel 1996), Sin embargo en Francia la media de concentración del nivel de Tl en suelos de cultivo es un poco mayor y va de 0.29 a 0.40 mg/kg, en suelos de Alemania principalmente en las cercanías de fábricas se detectaron concentraciones de 10 mg/Kg (Tremel *et al* 1996; OEHHACEPA 1999; Radic *et al* 2008).

Contaminación de vegetales y de frutas por talio

Se han detectado concentraciones de Tl consideradas menores a 1 mg/Kg en suelo de áreas naturales donde no existen minerales con Tl. Para el caso contrario existen muy pocas áreas con altas concentraciones ya que este metal reacciona y tiene la capacidad de asociarse al tipo de suelo, a la cantidad de materia orgánica, al hierro y óxidos de magnesio formando complejos estables causando la acumulación de Tl, pudiendo llegar a niveles superiores en 2.5 mg/Kg del suelo en periodos largas de exposición en zonas locales.

En respuesta a las concentraciones elevadas de Tl y por su solubilidad en agua, el suelo responde a un cambio de pH de carácter ácido afectando a la vegetación por la acumulación con la amenaza de contaminar otros sistemas biológicos así como

MARCO TEÓRICO

cuerpos de agua potable. Concentraciones elevadas Tl de origen mineral se han encontrado en la ex Yugoslavia Macedonia donde afecta el crecimiento y la producción de tabaco, cereales, algodón y otros vegetales de uso domestico (Brockhaus *et al* 1981, IPCS 1996, Wierzbicka *et al* 2003).

El talio como metal pesado y tóxico es capaz de afectar a vegetales por la asimilación a través de la raíz (Mitchell *et al* 2007, Cvjetko *et al* 2010), donde se incorpora y distribuye por capilaridad a todos los tejidos de la planta. Con facilidad es capaz de atravesar la pared celular, pasar al interior de las células y así modificar la cinética de diferentes tejidos. En estos últimos, probablemente se liga a los péptidos en regiones que contienen clorofila e interviene con la producción y disponibilidad de oxígeno. La escasa disponibilidad de oxígeno afecta la transferencia electrones en los fotosistemas I y II, e induce clorosis en hojas, a demás no permite la buena asimilación de elementos traza viéndose afectada principalmente la raíz seguida del tallo, mientras que los hongos asociados en la raíz de plantas no se ven alterados por el Tl. En un estudio el análisis de una planta seca después de una exposición con Tl^+ en laboratorio se encontró aproximadamente 1 mg/Kg del metal acumulado (IPCS 1996).

Al respecto, se han detectado concentraciones de Tl en alimentos de origen vegetal mayores a 10 mg/Kg (Zhou y Liu, 1985), donde destacan por su importancia los siguientes; papas, ejote, frijol, tomate, perejil, apio, cebolla, zanahoria, pepino, pera, fresas, manzana y el calabacín. Por lo que estas verduras comestibles son una de las vías para la ingesta del talio en humano acumulándose y por su toxicidad ocasionando severos daños al metabolismo y la salud (IPCS 1996).

4.1.3. Toxicocinética del talio

Un individuo puede exponerse de diferentes maneras al Tl que son de tipo laboral, accidental, terapéutica e intencional o por el consumo de alimentos contaminados. En mamíferos la entrada del Tl se da por inhalación, ingestión de alimentos y agua, así como a través de la piel por exposición al aire contaminado (**Figura 2**).

MARCO TEÓRICO

La distribución se favorece por la solubilidad del compuesto de Tl, no obstante una vez absorbido (Heydlauf 1969) llega al sistema linfático y así se distribuye a los órganos del cuerpo, como son el cerebro, corazón, riñón, tiroides, páncreas, músculo esquelético y las gónadas, donde puede acumularse y causar daños (Galván-Arzate y Santamaría 1998, Lu *et al* 2007). Por otro lado, se conoce su habilidad para cruzar las barreras biológicas como la placentaria y llegar al feto alterando su integridad e induciendo alteraciones prenatales (OEHHACEPA, 1999). El metal generalmente se acumula en los órganos y es eliminado a diferentes tiempos por la orina, el sudor, la saliva, respiración, las lágrimas, leche, la bilis, y las heces (Galvan-Arzate y Santamaría 1998, EPA 2009). Se sospecha que los niveles de Tl pueden variar por la acumulación y también la velocidad de eliminación en cada órgano.

No se conoce con certeza si el Tl en estado de oxidación I como Tl^+ pasa a Tl^{2+} , sin embargo este último es inestable y pasa a Tl^{3+} dentro del organismo de los mamíferos (Kenneth *et al* 1989). Se propone que la biotransformación si es que ocurre, mantiene un equilibrio entre los dos estados de oxidación y ambos son distribuidos a través de los fluidos corporales (OEHHACEPA 1999, EPA 2009). En la célula el Tl^+ puede ser secuestrado por distintos orgánulos membranosos entre ellos las mitocondrias. Se piensa que el Tl^+ afecta las funciones que dirige la membrana alterando y bloqueando los procesos bioquímicos de otros cationes metálicos como el sodio (Na^+) y el potasio (K^+). Mientras que del Tl^{3+} se ignoran ciertos aspectos y no se ha avalado su proceso bioquímico (Britten y Blank 1968, Kenneth *et al* 1989, Cheng-Hang y Tser-Sheng 2005, Mitchell *et al* 2007).

Los riesgos de la intoxicación por Tl dependen del tiempo de exposición aguda, subcrónica o crónica, con manifestaciones clínicas características acorde al tipo y periodo de exposición (**Figura 2**) (Galvan-Arzate y Santamaría 1998).

MARCO TEÓRICO

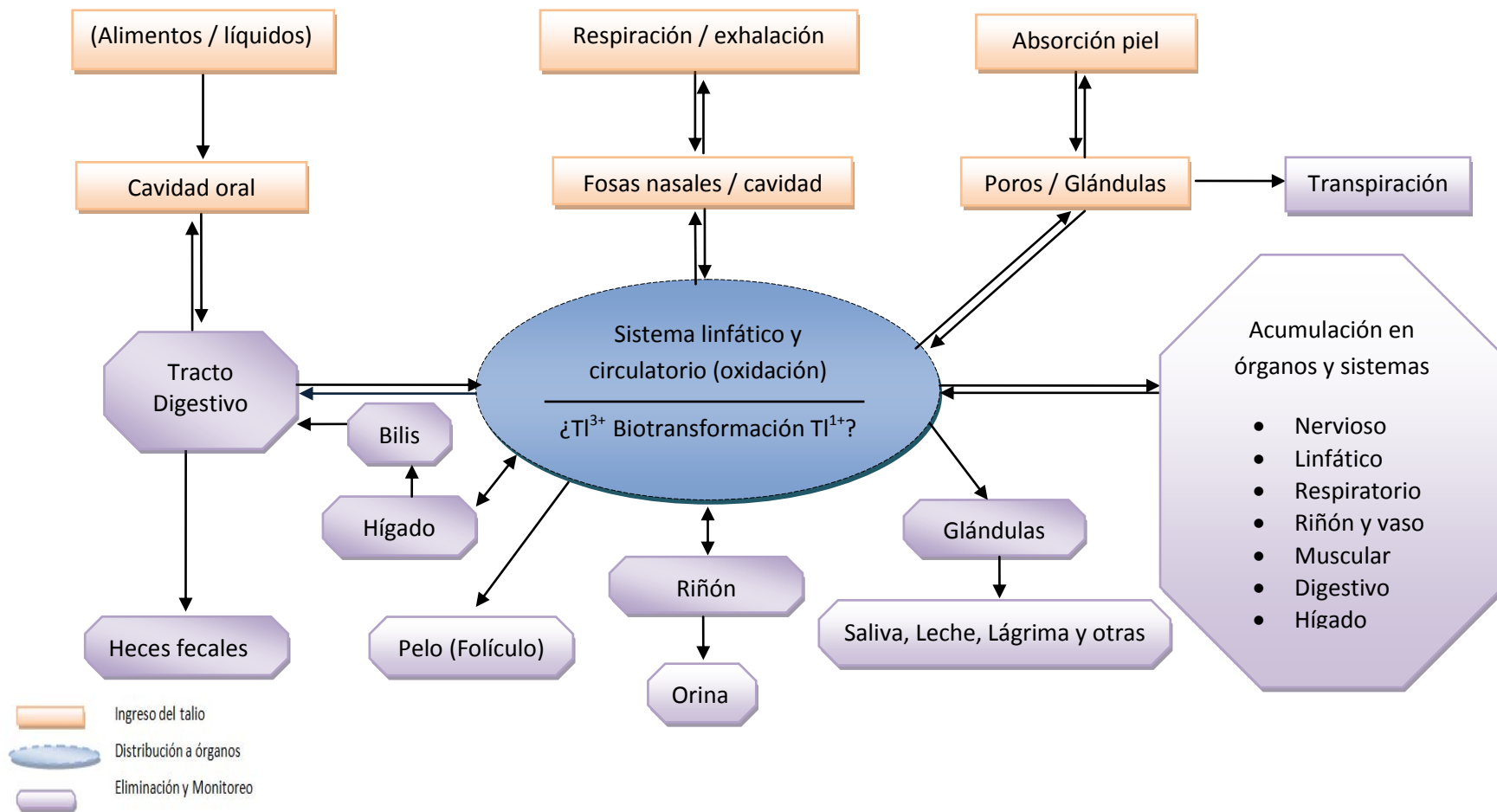


Figura 2. Esquema de la toxicocinética del talio. Modificado de Friberg y Elinder 1993.

4.1.4. Efectos en la salud

Los efectos del talio se han documentado en una variedad de sistemas biológicos que van desde mamíferos, plantas y microorganismos. Se ha determinado que las sales de Tl son estables, altamente tóxicas con consecuencias desastrosas (Kenneth *et al* 1989, Pau 2000, Cvjetko *et al* 2010) que representa un problema severo en la salud en humanos. Las personas intoxicadas con este metal presentan cuadros clínicos complejos, que incluye efectos en sistema nervioso, gastrointestinales, cardiovasculares, motriz, dermatológicos y otros más con la característica de producir efectos específicos en cada órgano.

Entre los síntomas más característicos se encuentran la astenia (disminución de la actividad cotidiana), dolor, debilidad, coma, alucinaciones, ansiedad, psicosis, neuritis (retrobulbar) del nervio óptico, convulsiones, ataxia, confusión insomnio, delirium, letargía, aturdimiento, cambios de personalidad, pérdida de apetito, tensión abdominal, náuseas, vómitos, constipación y en algunos casos anorexia (Kenneth *et al* 1989, Lu *et al* 2007). Otros síntomas que produce son taquicardia, pulso irregular, hipotensión, angina de pecho, arritmias cardíacas e hipertensión (Kenneth *et al* 1989, Rusyniak *et al* 2002, Tsai 2006), No obstante uno de los efectos frecuentes observables es la resequedad de la piel y alopecia; comenzando por un cabello encrespado, quebradizo, con eritemas alrededor del folículo piloso, el pelo cae de raíz sin dolor lo que produce un deterioro de la calidad de vida del intoxicado.

En algunos casos la sintomatología puede ser confundida con gripe conocida como “gripe tálica” acompañado de cansancio, fatiga y debilidad física conocido como astenia (Martínez *et al* 2003), dolor en espalda, extremidades inferiores (en piernas, en pies) y en casos severos distesia, para la marcha (debilidad), parálisis, temblores y convulsiones por afectación de los hemisferios cerebrales. El cuadro se agudiza debido a las características del talio por ser insípido incoloro e inodoro con el paso del tiempo hace que los efectos sean irreversibles y como veneno silencioso culmina con la

MARCO TEÓRICO

muerte (Romero 1989, Galván-Arzate y Santamaría 1998, Tromme 1998, Pau 2000, Rusyniak *et al* 2002, Jha *et al* 2006, Lu *et al* 2007).

4.1.5. Intoxicación y antídotos

Para tratar personas intoxicadas con TI se utilizan algunos compuestos específicos (Lu *et al* 2007) que intervienen con los mecanismos de toxicidad sistémica capaces de modificar la cinética urinaria y de excreción fecal (Heydlauf 1969). Son agentes químicos que tienen una efectividad variable en cada individuo entre estos se encuentran, el azul de Prusia, hexacianoferrato férrico (III) de potasio $[(KFe^{3+})(CN)_6NH_2]$, ditizona (difenil tiocarbazona), furosemida (agente diurético), D-penicilamina (Montoya-Cabrera *et al* 1991), yoduro de sodio y yoduro de potasio. Mientras que en otros casos se han complementado estos tratamientos en humanos intoxicados con la ingesta de líquidos acompañado de diuresis forzada que ésta a la vez es monitoreado en muestras sanguíneas y de orina. Aunque son varios los compuestos de esta categoría, el azul Prusia es el más empleado y a la vez recomendado por su poder absorbente y su intercambio iónico con el Tl^+ duplicando y triplicando la excreción fecal comparado con otros (**Figura 2**) (Lehmann y Favari 1985, Rangel-Guerra *et al* 1990, Montoya-Cabrera *et al* 1991, Ries y Dart 2005).

4.1.6. Efectos citotóxicos, mutagénicos y genotóxicos

Los efectos mutagénicos, genotóxicos y de toxicidad celular del TI son escasos en su mayoría, las sales orgánicas e inorgánicas son muy solubles en agua, lo que facilita su incorporación a los sistemas biológicos, se sabe que por exposición a los compuestos de TI se alteran los mecanismos y funcionalidad de la célula e induce muerte celular y otros efectos citotóxicos. Los daños que causa puede ser por la afinidad que tiene el Tl^+ con los grupos amino sulfhidrilo, los centros activos de las enzimas y su similitud química tanto con el potasio (K^+) como con el sodio (Na^+).

En una prueba realizada con bacterias de la cepa de *Bacillus subtilis* H17 (Rec^+ , arg^- , trp^-) y M45 (Rec^- , arg^- , trp^-) expuestas a 0.001 M de nitrato de TI ($TlNO_3$), se encontró que la población celular se redujo a causa de la muerte por los efectos del metal, además en los grupos tratados con el compuesto se incrementó la frecuencia de

MARCO TEÓRICO

recombinación genética que es un parámetro de daño al ADN. Sin embargo, el TlNO_3 y el acetato de Tl (CH_3COOTl), en concentraciones $3.1 \mu\text{g}$ no induce mutaciones inversas en *Escherichia coli* (B/r WP2 tr^- y WP2 her^-) y en *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA100, TA98 y TA1538) con o sin activación metabólica (Leónard y Gerber 1996, IPCS 1996, EPA 2009).

Por otro lado se ha reportado que el cloruro de talio (TlCl) aplicado en hámster chino en dos dosis de 5 y 10 mg/Kg vía oral, el compuesto incrementó la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en células de médula de ósea. En tanto en las líneas de células C₅₇B1/6 y CBA de embrión de ratón el carbonato de talio (Tl_2CO_3) aplicado en concentraciones de 10^{-4} a 10^{-6} M incrementó los rompimientos en las hebras de ADN, además, este efecto que también se observó en fibroblastos de embrión de rata. Con la prueba mutaciones letales dominantes en rata el carbonato de talio en dosis de 5×10^{-4} y 5×10^{-5} mg/Kg dio positiva, sin embargo el significado de estos resultados no han sido aceptados debido a que la comunidad científica ha encontrado fallas en la metodología (OEHHACEPA 1999, Galván-Arzate y Santamaría 1998, EPA 2009).

En cuanto a los efectos mutagénicos y genotóxicos en humano se conoce el caso de un hombre que ingirió accidentalmente 200 mg de sulfato de talio, al que se le tomó la muestra de sangre para análisis citogenético y revelo un incremento de células binucleadas con micronúcleos pero no modificó la frecuencia de alteraciones cromosómicas e intercambio de cromatidas hermanas (OEHHACEPA 1999), sin embargo en otro estudio de personas expuestas a Tl^{201} (isótopo radioactivo usado para obtener imágenes del miocardio y tumores), se encontró que causa daño al material genético, sin embargo esto no significa un incremento en la frecuencia de gen *hntp* (del ingles: *hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase*) (Leónard y Gerber 1996, Lu et al 2007). Existen pocos trabajos que muestren de manera contundente la genotoxicidad de los compuestos de Tl aunque estos no son concluyentes.

El Tl tiene efectos teratogénicos en embriones de pollo causando hipotrofia ósea y distrofia en alas y piernas acompañada de curvatura de huesos, deformidad del pico, reducción de la talla del embrión. En ratas induce mala osificación de los falanges y

vertebras, mientras que en cachorros de perro alteraciones de cartílago. Se tiene documentado el caso de una mujer que ingirió TI durante su embarazo que provoco en su bebe múltiples alteraciones congénitas ocasionadas durante el desarrollo embrionario, además también se tienen casos en los cuales induce la muerte de los fetos (Galván-Alzate y Santamaría 1998).

4.2. Ciclo celular

La mitosis es el proceso continuo de reproducción celular cuya función es la duplicación de la célula junto a la del material genético así como la trasmisión de los genes a la célula descendiente. La mitosis es propia de células somáticas ($2n$), y que para fines descriptivos, se divide en 4 estadios profase, metafase, anafase y telofase. La duración de los cuatro estadios varía entre especies al igual que entre órganos de un mismo individuo, e incluso entre células dentro de un mismo tipo celular. El crecimiento y la division del ciclo de la celula humana, se encuentran regulados por una intensa activida molecular en las que partcipan proteínas kinasas (enzimas con adiccion de fosfato por un lado del canal de proteínas), kinasas inhibitoras específicas, factores de regulacion y proteasas específicas encargadas de dirigir los procesos de division celular en diferentes interfases dentro de un sistema biológico en su caso en estudios *in vitro* (Tamarin 1996, Pollard *et al* 2004,)

En estudios *in vitro*, este tipo de conocimiento del ciclo celular es fundamental, para saber la duración de sus fases (G_0 , G_1 , S, G_2 , M) que suman en total como se presenta en la **Figura 3**. La reproducción celular tiene un tiempo aproximado de 24 horas (Klug *et al* 2006)

La progresión del ciclo celular a partir de G_0 muchas veces esta dado por cualquier tipo de estimulo por algún agente, ya que G_0 se caracteriza por diferentes cambios celulares y progresan a la fase, G_1 que se encuentra regulado por un punto de control e ingresar a la fase S, donde se sintetiza ADN a través de una intensa actividad metabólica de enzimas y proteínas en esta fase se logra apreciar crecimiento celular, y después pasa a la fase G_2 el material genético se compacta en unidades de empaquetamiento, hacia el final del ciclo celular se encamina a la fase M, donde los

MARCO TEÓRICO

cromosomas son jalados a los polos opuestos acorde al huso mitótico y ocupa sólo una pequeña parte del ciclo, regularmente es menor a una hora en las células humanas en cultivos *in vitro* (Klug *et al* 2006, Wayne *et al* 2007).

En este proceso las células se encuentran reguladas por los puntos de control a través de la progresión durante el ciclo celular hasta llegar a la citocinesis hasta concluir y detenerse en G_0 , que al estimularse activará la división celular (Klug *et al* 2006, Wayne *et al* 2007).

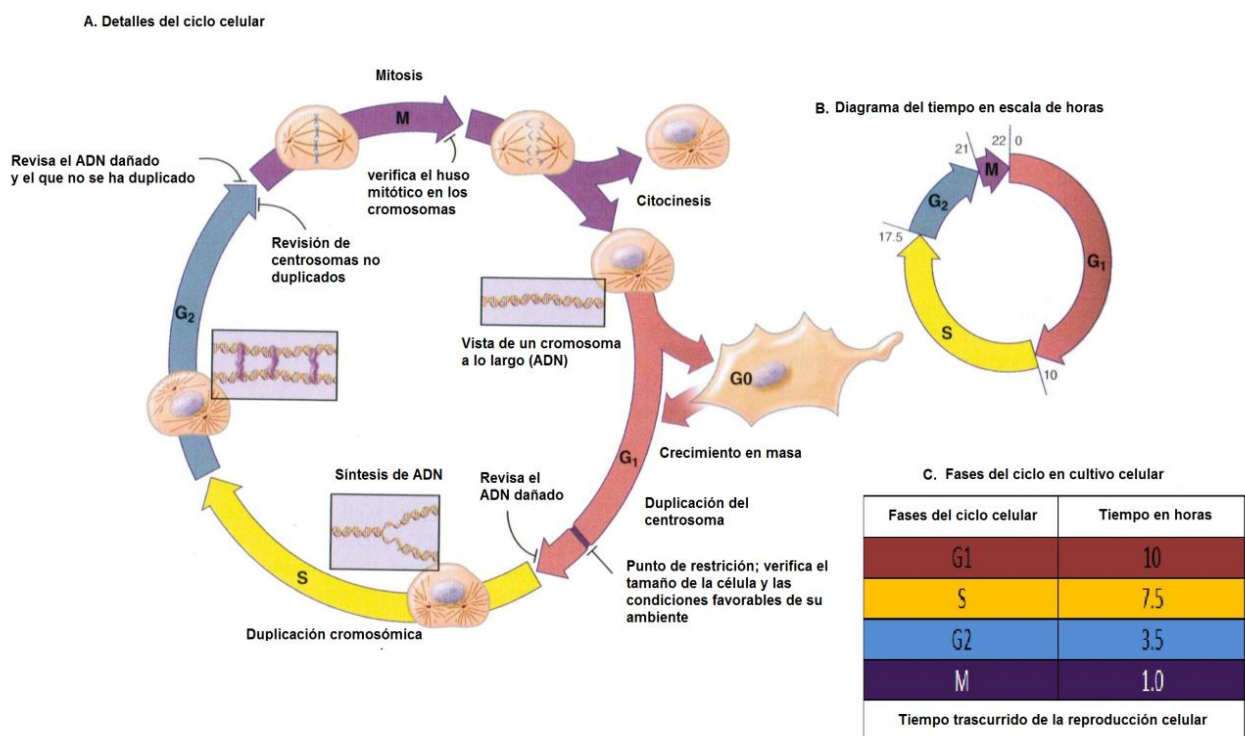


Figura 3. Ciclo celular eucariótico (tomado de Pollard *et al* 2004).

El cromosoma

El cromosoma es la estructura de empaquetamiento del ADN al interior de núcleo celular de los organismos eucariotas, observables en cariotipo donde se ordenan en pares homólogos de iguales características. Esta semejanza en cuanto tamaño y forma dispuesta en los cromosomas homólogos para las células somáticas poseen la

MARCO TEÓRICO

información completa necesaria de un individuo diploide ($2n$) de 46 cromosomas para humano; 23 cromosomas aportados por cada uno de los progenitores durante la fecundación. Estos cromosomas en células $2n$ se pueden observar a partir de fase G_2 , dependiendo su compactación, pero el más recurrido es el de metafase por su visibilidad para estudios citogenéticos.

En una metafase a campo claro en humanos se observan 46 cromosomas de los cuales 44 son autosomas y el par 23 es conocido como par sexual; en la mujer son dos del grupo de los "X" y en el caso del hombre uno es "X" y el otro "Y", el material genético está formado por el ácido desoxirribonucleico (ADN), una macromolécula lineal y sensible, única en su naturaleza que se encuentra constituida por un azúcar (desoxirribosa), un radical fosfórico y una pareja de bases azoadas que son de dos tipos; las bases puricas adenina **A** y guanina **G** y las pirimídicas citocina **C** y la timina **T**.

Las bases nitrogenadas poseen el código de la vida (ADN) de un individuo y proveen las herramientas necesarias en la homeostasis adecuada mientras no existan alteraciones en sus bases nitrogenadas (Novo-Villaverde 2004, Wayne *et al* 2007, Russell 2010).

En la actualidad se dispone de pruebas citogenéticas para identificar cientos de enfermedades genéticas hereditarias, y este número crecerá cuando se identifiquen y aislen genes que codifican una información única y especializada como se muestran en la **Figura 4**. Sin embargo estos genes en cromosomas suelen ser afectados tanto en número como en estructura causando enfermedades así algunos síndromes y en el desarrollo embrionario malformaciones y abortos (Novo-Villaverde 2004)

MARCO TEÓRICO

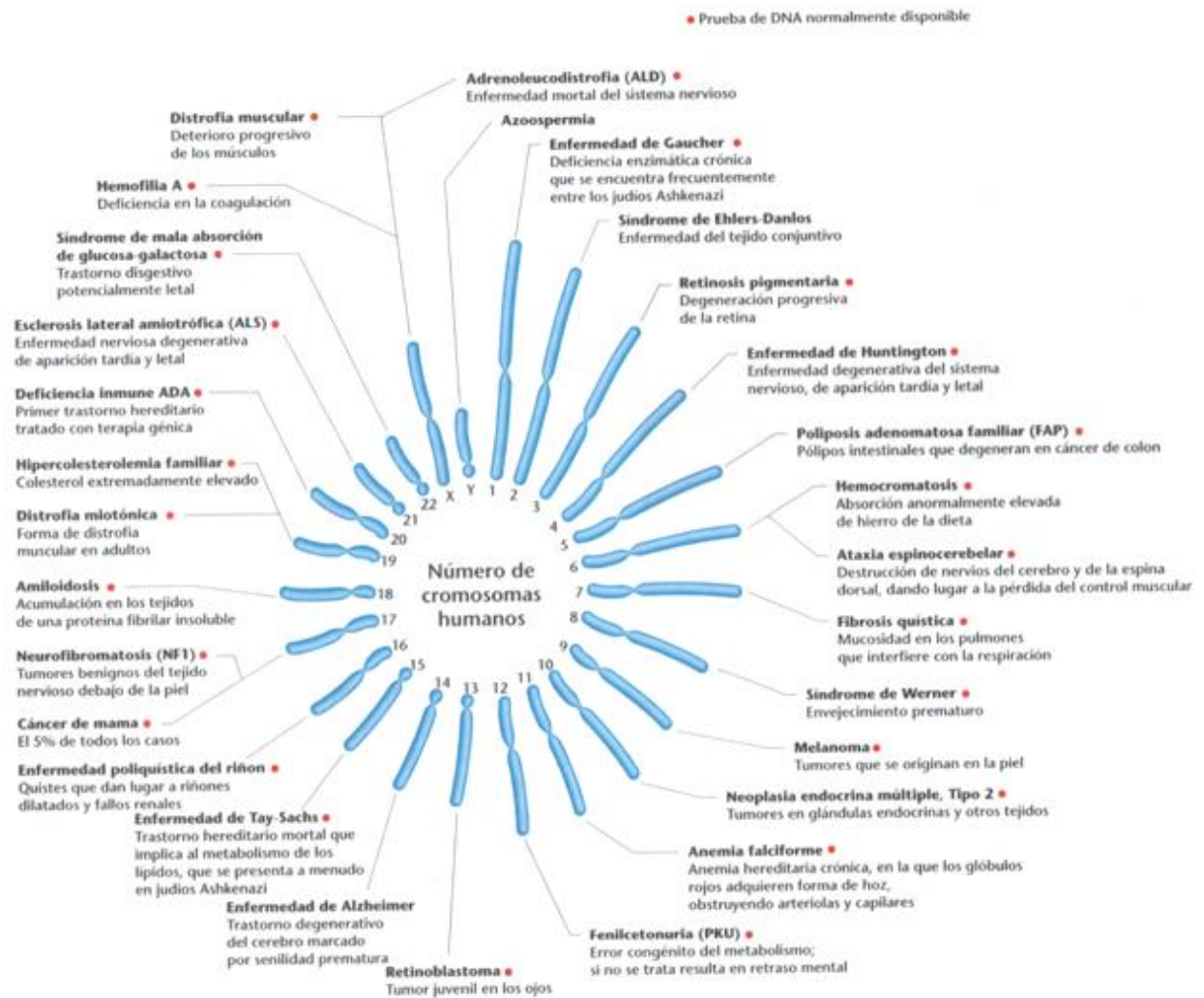


Figura 4. Esquema de dotación de cromosomas humanos muestra algunos genes mutantes que dan lugar a enfermedades hereditarias. El punto rojo indica las enfermedades diagnosticables por análisis de ADN (tomado de Klug *et al* 2006).

El ADN la doble hélice

En 1953 James D. Watson y Francis H. Crick propusieron un modelo para explicar la disposición física y química de la molécula del ADN. La molécula que idearon se ajustó a todos los datos y conocimientos sobre su composición para establecer el modelo de la hoy famosa molécula de la doble hélice. Esta determinación de la estructura del ADN fue una ocasión trascendental en la biología que condujo a nuestra comprensión molecular y celular de nuestro presente (Russell 2010).

MARCO TEÓRICO

Durante la interfase del ciclo celular incluyendo la fase de síntesis de ADN (fase S), y durante la división, el material genético queda expuesto a factores y agentes que inciden de manera directa e indirecta (Arni y Hertner 1997), que muchas veces alteran los mecanismos implicados en su replicación, reparación y empaquetamiento ver **Figura 5**. Es en el cromosoma donde puede observarse el daño ocasionado en estructura y número originando alteraciones graves e induciendo enfermedades acorde al tipo de daño del material genético (ADN), en humano (Freifelder 1988, George 2003, Pierce 2005, Klug *et al* 2006).

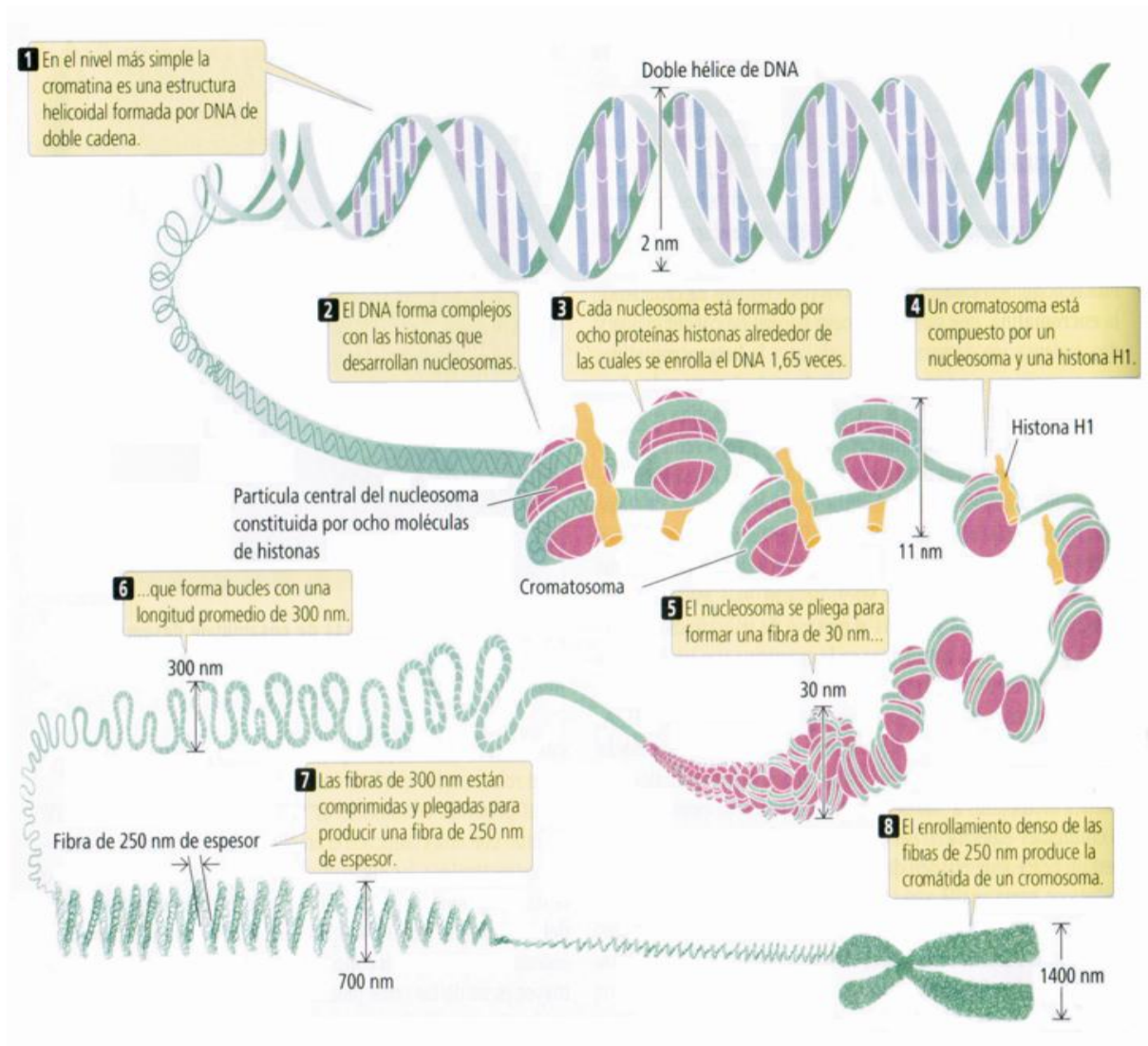


Figura 5. Estructura del ADN (ácido desoxirribonucleico), la cromatina posee niveles complejos de organización (tomado de Pierce 2005).

4.3. Sangre y el linfocito como modelo de prueba

La sangre es una suspensión conformada por elementos celulares y una solución de plasma que constituyen el 7 % correspondiente al peso corporal en humanos que está constituida por agua, oxígeno, bióxido de carbono, proteínas, carbohidratos, lípidos y hormonas necesarias para el correcto funcionamiento de los órganos y tejidos del cuerpo (Nelson y Cox 2008).

En la sangre además del plasma encontramos la fracción de células sanguíneas y fragmentos citoplásmicos. La fracción de células la constituyen los glóbulos rojos y glóbulos blancos, y la fracción de fragmentos celulares la conforman las plaquetas o trombocitos. Los diferentes tipos celulares así como las plaquetas se originan a partir de las células pluripotenciales (células troncales hematopoyéticas) en medula ósea a través de un proceso conocido como hematopoyesis.

Los glóbulos mejor o eritrocitos se forman durante la eritropoyesis, son células que pierden su núcleo cuando maduran en la medula ósea y tienen como función principal el transportar de gases, poseen elevadas cantidades de hemoglobina y su tiempo de vida es de 120 días aproximadamente (Evans 1984, Moran 2001, Nelson y Cox 2008).

Los glóbulos blancos o leucocitos son células nucleadas y estos incluyen a los granulocitos, linfocitos, monocitos son linfocitos. Los granulocitos son de tres tipos, los más abundantes son los neutrófilos con el 95 por ciento del total de la fracción de granulocitos, le siguen los eosinófilos con 4 % y los basófilos con cerca del 1 %. Los leucocitos al igual que los eritrocitos se originan a partir de células pluripotenciales, sin embargo los linfocitos a diferencia de los demás tipos celulares maduran en la glándula del timo, en los ganglios linfáticos y en bazo, donde adquieren receptores de membrana que les da especificidad; por ejemplo los que se especializan en timo y ganglios linfáticos adquieren entre otros el receptor para linfocitos T (TCR, T cell receptor) y los que maduran en bazo adquieren el receptor específico para antígenos tipo B (BCR, B cell receptor).

MARCO TEÓRICO

Los linfocitos son de tipo B son células que presentan núcleos grandes y son las encargadas de la inmunidad humoral, responden ante estímulos de un antígeno (Más información en Cauerhff *et al* 2006, Blum y Padst 2007) se transforman en células plasmáticas que sintetizan y segregan anticuerpos (inmunoglobulinas) en circulación para llegar hasta el sitio de acción.

Los linfocitos T están encargados de coordinar la respuesta inmune celular (linfocitos T citotóxicos) como lo es la protección a largo plazo ante virus, bacterias y células cancerosas, además de interactuar (linfocitos T cooperadores) con los linfocitos B (supresores y de memoria) para la producción de anticuerpos y dar respuesta inmune contra antígenos específicos (Cauerhff *et al* 2006).

El linfocito como modelo de prueba en experimentación, es recurrido en pruebas citogenéticas *in vivo* e *in vitro*, por sus características son de fácil obtención en donde en 1 ml de sangre se disponen aproximadamente de 1-3 millones (Blum *et al* 2007). En individuos sanos los linfocitos se encuentran en fase G₀, pueden ser cultivados y estimulados para reiniciar el ciclo celular con algún mitógeno como la fitohemaglutinina, su tiempo de división es de aproximadamente 24 horas. De hecho el cultivo de células de sangre de humano es uno de los modelos más utilizados en el diagnóstico citogenético, por su sensibilidad como indicador de alteraciones en la estructura o en el número de cromosomas que puedan causar agentes físicos, químicos o biológicos (Evans 1984, Moran 2001, Blum y Padst 2007).

4.4. Aberraciones cromosómicas estructurales

Para los análisis citogenéticos y de daño al material genético se emplean varias pruebas como los intercambio de cromátidas hermanas (ICH), aberraciones cromosómicas (AC) (Arni y Hertner 1997, Wierzbica *et al* 2003, Yildirim *et al* 2005), micronucleos (MN) y el ensayo cometa (Swierenga *et al* 1991).

Las AC son un buen biomarcador de daños en la célula por exposición *in vivo* o *in vitro*. La prueba de AC ha sido usada por más de 40 años para revelar cambios en el número de cromosomas o rompimientos en los cromosomas (efecto conocido como clastogénico) inducido por agentes físicos, químicos o biológicos (Bender *et al* 1974, Evans 1984, EPA-HETG 1998, Albertini *et al* 2000, Mateuca *et al* 2006, Natarajan y Palitti 2008, Bignold 2009).

Los agentes que inducen daño al material genético en G_1 - G_0 , S, G_2 y M) pueden desencadenar cambios en la estructura del cromosoma, es decir los rompimientos del material genético están involucrados en la formación de reuniones incorrectas y traslocaciones. Estos rearrreglos cromosómicos están descritos en el **Cuadro II** y la **Figura 6**.

La agudeza visual al microscopio es un instrumento fundamental para detectar aberraciones cromosómicas estructurales (ACE), a nivel cromosómico y cromatídico como deleciones terminales, lesiones acromáticas (o brechas), rompimientos, intercambios de *loci* entre cromosomas, inter- e intracambios en cromosoma, minutas, rompimientos isocromatídicos simétricos y asimétricos, arreglo de anillo céntrico e inversión de cromátidas (**Cuadro II**) (Evans 1984, Natarajan 2002, Obe *et al* 2002, Mateuca *et al* 2006, Natarajan y Palitti 2008, Bignold 2009).

MARCO TEÓRICO

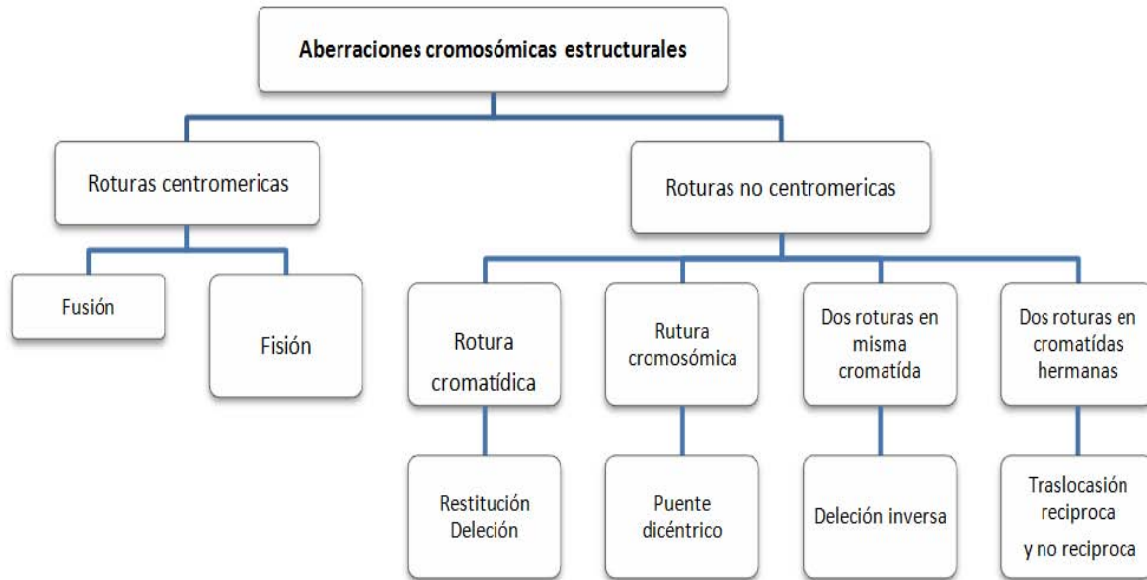


Figura 6. Clasificación de roturas y reuniones (modificado de Tamarin 1996).

MARCO TEÓRICO

Cuadro II. Aberraciones cromosómicas estructurales

TIPO DE ABERRACIÓN	FIGURAS	DESCRIPCIÓN
<p><u>TIPO CROMOSÓMICO</u></p> <p>Brecha (B) o lesión acromática</p>		<p>Involucra a ambas cromátidas de un mismo cromosoma y loci.</p> <p>Región cromosómica distal del gap o brecha está alineada con la región proximal. La región no teñida no es mayor que el diámetro de la cromátida.</p>
<p>Rompimiento cromosómico o deleción terminal</p>		<p>Involucra solo un cromosoma y como en todos las aberraciones de tipo cromosómico ocurren el daño en la fase G0 o G1, antes de su replicación del material genético. La parte del centro de la deleción del cromosoma no puede ser identificada.</p> <p>En la mayoría de las metafases de las células no pueden ser distinguidas de los rompimientos isocromatídicos por lo que se les conoce como rompimiento isolocus.</p>
<p>Intercambio</p> <p>a) Intercambio entre cromosomas (C/C)</p>	 <p>Dicéntrico acompañado de un fragmento</p>	<p>Involucra dos o más lesiones en mismo o diferente cromosoma.</p> <p>Resultan del intercambio de dos cromosomas en G1. El fragmento es parte del intercambio y no puede ser considerado como un evento separado.</p>
<p>b) Intercambio en el mismo cromosoma; (C/C)</p> <p>b.i) Intercambio entre brazos</p>	 <p>Anillo céntrico acompañado de un fragmento</p>	<p>El fragmento es parte del intercambio y no debe contarse como un evento separado. Un fragmento se encuentra localizado en un anillo (dicéntrico) y los fragmentos permanecen localizados como deleciones isolocus.</p>
<p>b.i.i) Intercambio dentro de los mismos brazos</p>	 <p>Anillo acéntrico</p>	<p>La parte céntrica de este intercambio puede no ser identificada. Los anillos acéntricos pequeños son llamados minutas o deleciones intersticiales.</p>

MARCO TEÓRICO

...CONTINUACIÓN CUADRO II.

TIPO DE ABERRACIÓN	FIGURAS	DESCRIPCIÓN
TIPO CROMATIDICO		
Gap (g)		Usualmente involucra solo una cromátida de cada cromosoma excepto por las brechas isocromatídicas.
Rompimiento cromatídico (c) o deleción		Región no teñida y menor al diámetro de la cromátida.
	fragmento alineado	Región no teñida mayor al diámetro de la cromátida.
Rompimiento Isocromatídico		Presenta un fragmento invariable asociado con el cromosoma original.
	Fragmentos desalineados	Muestra reunión incompleta o unión hermana de los rompimientos terminales (Su)
		Reunión incompleta (no-unión, Nu) proximal (p) y distal (d). Los fragmentos alineados o no alineados/ dislocados.
		El tipo de reunión no puede ser identificado, los fragmentos refieren a una delación isolocus.
	Nud	
	Nup	
Intercambio		
a) Intercambio entre cromosomas (c/c)		Se origina por rompimientos cromatídicos en distintos cromosomas, los fragmentos resultantes se unen formando figuras cuadriradales
a.i) Asimétrica		
a.i.i) Simétrica		
b) Cambios en un cromosoma;(c/c)		No se producen fragmentos libres
b.i) Entre brazos de un mismo cromosoma (intercambio)		No hay fragmentos si la reunión es completa
b.i.i) Intra-cambios de un mismo brazo.		El fragmento permanece asociado con el cromosoma original.
Minuta o deleción intersticial		
c) Isocromatídicos (intercambio en la cromátida)		Un fragmento formado
Dicéntrico trirradial		
Trirradial Monocéntrico		No se forman fragmentos si la reunión es completa.

Tomado de Venitt y Parry. 1984.

MARCO TEÓRICO

4.5. Aberraciones cromosómicas numéricas

Las ACN son variaciones en relación al número haploide de cromosomas (euploidias) y al desbalance en cuanto a la cantidad de pares de cromosomas (aneuploidías). En el humano las células somáticas ($2n$) contienen normalmente 46 cromosomas, de los cuales 22 pares son conocidos como autosomas y el par 23 esta apareado un cromosoma "X" y uno "Y" para el caso del varón y en la mujer son dos X. Sin embargo son indispensables para regular el número de copias de un gen y del producto génico de su expresión (Freifelder 1988, George 2003).

Condiciones anormales de número ACN, conducen a enfermedades graves a falta o exceso de información genética contenida en los cromosomas (George 2003). Los eventos que comúnmente se encuentran al evaluar ACN son los siguientes: aneuploidía, cuando en metafase se pierde o gana uno o más cromosomas pero no la dotación; por ejemplo las monosomías son cuando se pierde un solo cromosoma en un genoma $2n$, en tanto que la trisomía ocurre cuando se gana un cromosoma. Euploidía, faltan o están presentes dotaciones haploides completas de cromosomas en tanto que en las poliploidías los organismos contiene tres o más dotaciones, en las tetraploidías se presentan cuatro dotaciones como se observan en el cuadro II.

Cuadro III. Terminología para la variación en el número de cromosomas.

TÉRMINO	EXPLICACIÓN
Aneuploidías	$2n \pm x$ cromosomas
• Monosomía	$2n - 1$
• Trisomía	$2n + 1$
• Tetrasomía	$2n + 2,$
• Pentasomía	$2n + 3,$
Euploidias	Múltiplos de haploidías (n)
• Diploidía	$2n$
• Poliploidía	$3n, 4n, 5n, \dots$
• Triploidía	$3n$
• Tetraploidía	$4n$
• Pentaploidía	$5n$
• Autopoliploidía	Múltiplos del mismo genoma
• Aloploidía(Anfidiploidía)	Múltiplos de genomas distintos

Tomado de Klug *et al* 2006

4.6. Asociaciones de satélite

Una célula en interfase se caracteriza por tener uno o más nucléolos. Los pares de cromosomas acrocéntricos pertenecientes al grupo D (13, 14, 15) y los cromosomas al grupo G (21 y 22) tienden a asociarse (Zang y Back 1964, Gani 1978), debido a que presentan pequeñas estructuras satelitadas en brazos cortos que en interfase forman parte de la organización regional del nucléolo "NORs" (Zankl 1980, Verma *et al* 1983). Sin embargo, cuando entran en división celular en mitosis y meiosis (Houghton 1979) esta tendencia se mantiene y en células en metafase son claramente visibles, que supone pensar que poseen una adherencia muy propia que se conserva desde la formación del material nucleolar de las regiones satelitadas (Zang y Back 1964, Liem 1977), y se sospecha que alteraciones en estas estructuras son causantes de anormalidades cromosómicas en humano (Malcolm *et al* 1961, Houghton 1979, Sigmund *et al* 1979). Aunque los eventos de formación durante interfase no se han establecido de manera clara (Gani 1978) a esta condición se le conoce como asociaciones de satélites (AS) de cromosomas acrocéntricos y se conoce que la frecuencia basal de AS puede ser modificada por agentes químicos con propiedades tóxicas (Ferguson-Smith y Handmaker 1961, Ferguson-Smith *et al* 1961, Roldán y Altamirano 1990, Rodríguez-Mercado *et al* 2003).

Las asociaciones de satélite se les considera importantes por ser la causa posible del origen de aneuploidías, producidas por no-disyunción y re-arreglos estructurales. Entre estas últimas están las translocaciones que involucran los cromosomas del grupo D y G, alteraciones que se han relacionado con algunos síndromes como el de Down y Patau, ya que varios mutágenos químicos causan efectos de manera directa e indirecta sobre el ADN (Gani 1978).

En la **Figura 7 y 8** se pueden observar algunos de los cromosomas acrocéntricos asociados y la condición para ser consideradas como AS.

MARCO TEÓRICO

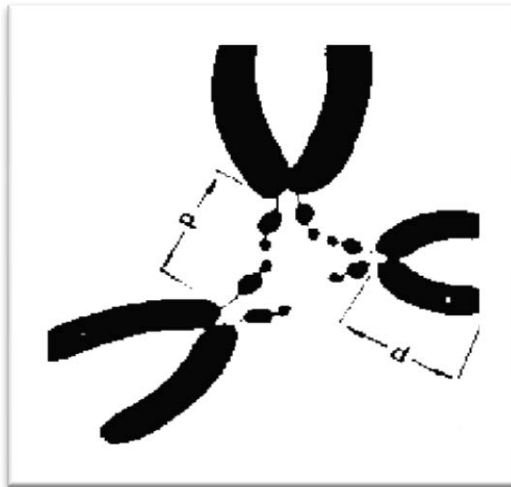


Figura 7. Asociación de satélites de cromosomas acrocéntricos, (DDG). Un criterio para ser consideradas AS es que la distancia entre los centromeros de los cromosomas involucrados no sea mayor a la longitud del brazo P de los cromosomas del grupo G de la metafase analizada (tomado de Houghton 1979).

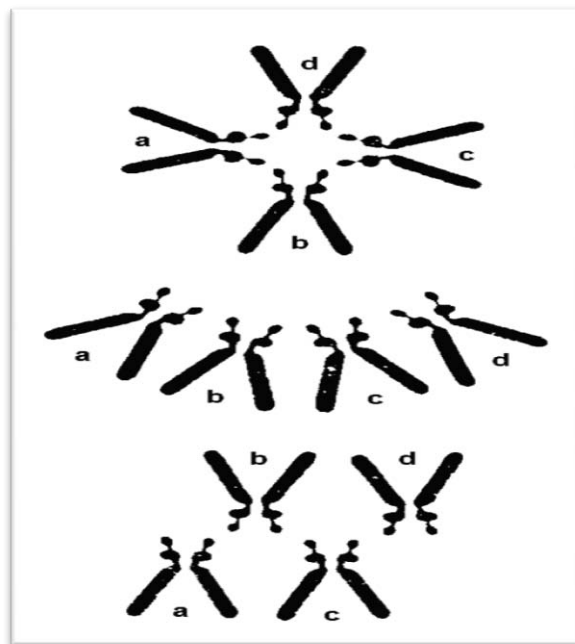


Figura 8. Número posible de asociaciones de satélite entre cromosomas acrocéntricos. Los cromosomas a, b, c y d, se pueden organizar en tres posibles formas (tomado de Zang y Back 1968).

5. JUSTIFICACIÓN

El acetato de talio es un químico conocido por la toxicidad que provoca en animales de experimentación en pruebas *in vivo*, sin embargo se desconoce su capacidad genotóxica, mutagénica y clastogena. En citogenética el análisis de AC es recomendado en la literatura para detectar daño inducido al material genético, reparaciones, re-arreglos incorrectos en cromosomas y además alteraciones en la proliferación celular (división celular). Estas anomalías están relacionadas con anormalidades congénitas, neoplasias en humanos, enfermedades recesivas, entre los más conocidos están los síndromes que comúnmente son inducidos por agentes metálicos mutagénicos y cancerígenos. El cultivo de linfocitos de sangre periférica humana tratados *in vitro* se emplea por su fácil manejo y sensibilidad para detectar daño cromosómico en el análisis de ACE, ACN, AS e IM para revelar los efectos genotóxicos y de toxicidad celular.

6. HIPÓTESIS

El acetato de talio en los organismos y el humano produce efectos irreversibles como los neurológicos, cardiológicos, reproductivos y algunos teratogénicos, sin embargo el mecanismo de acción no se ha descrito del todo. Se conoce que el Tl^+ es más estable que Tl^{3+} , puede competir con cationes esenciales, tiene afinidad por grupos sulfhidrilo de las biomoléculas y puede alterar la funcionalidad de mitocondrias, ribosomas y retículo endoplásmico. Por lo tanto, si el Tl^+ es capaz de alterar los mecanismos celulares e intervenir con la síntesis y reparación de ADN, entonces se espera encontrar daños en los cromosomas y cambios en el índice mitótico de linfocitos de sangre periférica humana cultivada y tratada con diferentes concentraciones de este compuesto.

7. OBJETIVOS

7.1. General

Evaluar el daño cromosómico y alteraciones en la división celular en linfocitos humanos de sangre periférica expuestos a 0, 0.5, 1, 5, 50 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de acetato de talio.

7.2. Particulares

- Cuantificar las células en metafase con respecto a las células en interface y calcular el IM de los cultivos de linfocitos humanos expuestos a las diferentes concentraciones de acetato de talio.
- Evaluar el tipo y la frecuencia de ACE en las metafases de los cultivos de linfocitos humanos expuestos a las diferentes concentraciones de acetato de talio.
- Evaluar el tipo y la frecuencia de ACN en las metafases de los cultivos de linfocitos humanos expuestos a las diferentes concentraciones de acetato de talio.
- Identificar cromosomas acrocéntricos de los grupos D y G y evaluar la frecuencia de AS en las metafases de cultivos de linfocitos humanos expuestos al acetato de talio.
- Aplicar las pruebas estadísticas correspondientes y determinar las significancias entre los grupos tratados y no tratados con acetato de talio de cada parámetro evaluado.

8. MATERIAL Y MÉTODO

8.1 Cultivo de linfocitos

Se seleccionaron con base a una encuesta tres donadores varones A, B y C (Carrano y Natarajan 1988, IPCS 1985), elegidos por no revelar exposición a algún tipo de “agente mutágeno”. A cada uno se le tomó una muestra de 10 ml de sangre periférica por venopunción con jeringa heparinizada de acuerdo con Moran 2001.

Se dispuso de la muestra sanguínea y sembraron 0.5 ml de sangre completa en 4.5 ml de medio de cultivo RPMI suplementado con L-glutamina, sulfato de gentamicina, suero fetal bovino y fitohemaglutinina (PB MAX GIBCO, EUA), en tubos cónicos Corning de polipropileno para centrifuga de 15 ml (Barrera *et al* 2008). Los cultivos se incubaron durante 48 hrs.

Tratamiento

Para determinar las concentraciones de acetato de talio (pureza 99%, laboratorio Riedel-Haen, distribuido por Sigma-Aldrich Chem. Co. WI) a emplear se realizaron experimentos preliminares de acuerdo con la literatura mediante una curva dosis efecto, y se eligieron las concentraciones de 0.5, 1, 5, 10, 50 y 100 µg/mL (EPA-HETG 1996). Se hicieron los cultivos de 48 hrs y se dieron los tratamientos a las 24 hrs con acetato de talio contando siempre con un cultivo al que no se le aplicó el metal (0 µg/mL) que fungió como testigo. A las 46.5 hrs de iniciado los cultivos se aplicó 0.2 µg/mL de colcemida (GIBCO, EUA), para inhibir la formación del huso mitótico y detener las células en metafase. La siembra y los tratamientos se realizaron en condiciones estériles

Cosecha

Al cumplirse las 48 horas del cultivo los tubos se centrifugaron a 1500 revoluciones por minuto (rpm), durante 5 minutos, enseguida se extrajo el sobrenadante y el paquete celular fue sometido a un choque hipotónico en 5 ml de solución de KCl (0.075 M) durante 20 minutos a la temperatura de 37 °C. Una vez transcurrido este tiempo, los tubos con la

MATERIAL Y MÉTODO

muestra se centrifugo nuevamente a 1500 rpm durante 5 minutos y se retiro el sobrenadante, el paquete celular se fijo en 5 ml de solución metanol-ácido acético (3:1 v/v, a 4°C) realizando tres cambios con reposo cada uno de 15, 10 y 5 minutos, respectivamente. Al termino de la ultima fijación, se adiciono al paquete celular 0.5 ml del fijador y se dejaron listas para la preparación en laminillas.

Preparación de laminillas

Las laminillas se hicieron por goteo, dejando caer la muestra a una altura aproximada de 50 cm, lo anterior con la finalidad de extender las células en metafase. Después de 24 hrs, las laminillas se tiñeron en una caja coplin con Giemsa (Hycel, México) al 5% durante 20 minutos (Rooney 1992).

Evaluación citogenética

La evaluación de metafases en laminillas se realizo en un microscopio óptico de campo claro, con material expuesto a las concentraciones de acetato de Tl (0.5, 1, 5, 10, 50 y 100 µg/ml) así como testigos negativos con su respectivo duplicado. Antes de las evaluaciones las preparaciones se codificaron y se leyeron a doble ciego. Para determinar el IM se analizaron 500 células por laminilla, 4 por cultivo mas duplicado (4000 células) a 40 aumentos en un microscopio OLIMPUS BX40. Se cuantificaron las células en división con respecto a las que se encuentran en interface (Evans 1984, Carrano y Natarajan 1988, Swierenga *et al* 1991) y se aplico la fórmula para el IM celular.

$$IM = (\text{número de células en división} / \text{número total de células}) \times 100$$

La frecuencia de ACE Y ACN se obtuvo mediante el análisis de 100 metafases por cultivo, en microscopio de campo claro a 100 aumentos con base a los criterios de Evans 1984 y los de IPCS 1985 (ver **Cuadro I**). Se tomo registro de ACE diferenciando las de tipo cromatídico de las de tipo cromosómico, y al mismo tiempo se evaluó las ACN, tanto aneuploidías como poliploidías (Carrano y Natarajan 1988, Swierenga *et al* 1991). Para AS se analizaron 25 metafases por lamina (100/Cultivo) a 100 X en microscopio de campo claro y se determino la frecuencia de AS de acuerdo con Zang y Back (1964), registrando

MATERIAL Y MÉTODO

los cinco pares de cromosomas acrocéntricos asociados (CAA) de los grupos D y G que se encuentren por células cada cultivo (Roldán y Altamirano 1990, Rodríguez-Mercado 2001). El diagrama que se siguió se puede observar en la **Figura 9**.

8.2 Análisis estadístico

Para el análisis de índice mitótico se aplicó una prueba de Z de proporciones y para el parámetro de aberraciones cromosómicas la prueba de ji cuadrada. Para la frecuencia de asociaciones satélite se realizó un análisis de varianza de un factor seguido de una prueba de Tukey (Márquez 1988 y Reyes-Castañeda 1990); se utilizó el programa SPSS versión 15.

MATERIAL Y MÉTODO

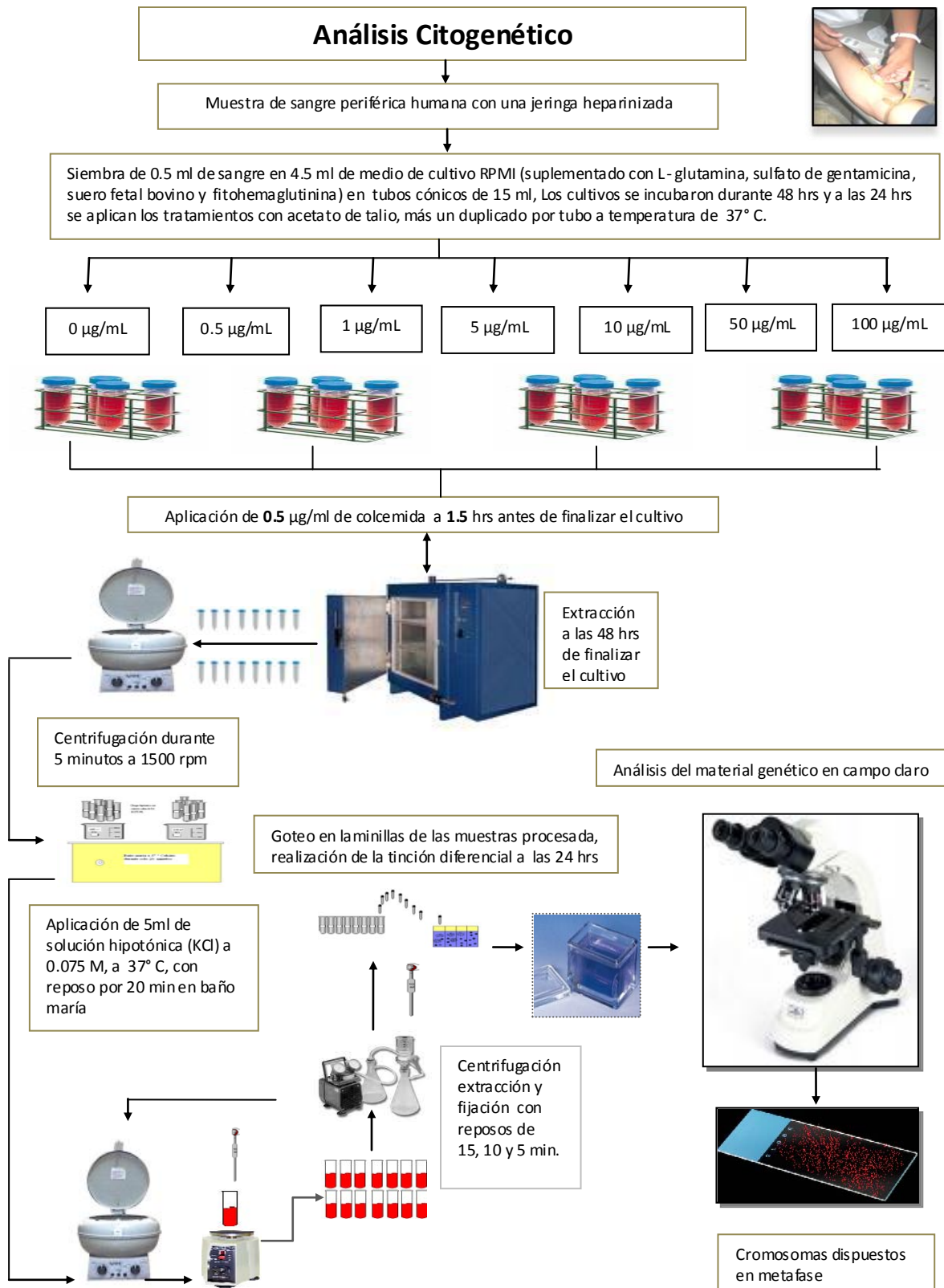


Figura 9. Método del análisis citogenético.

9. RESULTADOS

Los resultados obtenidos de las pruebas citogenéticas en los cultivos de linfocitos humanos tratados con diferentes concentraciones de acetato de talio se muestran en los **Cuadros IV, V y VI**, así como en las **Figuras 12, 13, 14 y 15**. En los cuadros se aprecian los resultados de los cultivos de tres donadores (A, B y C) y su respectivo análisis, en tanto que en las figuras los datos en promedios correspondientes a cada prueba.

En el **Cuadro IV** se muestran los datos de IM y la frecuencia de ACE en los cultivos celulares expuestos a 0 (testigo), 0.5, 1, 5, 10, 50 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de acetato de talio del donador A, el donador B y el donador C; los tres donadores varones de 29, 31 y 26 años de edad, respectivamente. Para la evaluación de IM se cuantificaron como mínimo 4000 células por tratamiento y por donador, distinguiendo células en metafase de las células en interfase, sin embargo en los tratamientos de 50 para el donador A se observaron muy pocas metafases y en la concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ninguna célula en metafase, efecto que se repitió en ambas dosis para los donadores B y C, razón por la cual no se presentan datos en estas concentraciones en la evaluaciones de AC y de AS. además se puede observar que el valor del IM en las concentraciones analizables disminuye con respecto al testigo de cada donador.

Es importante resaltar que a partir de la concentración de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ aparecen las diferencias estadísticas del IM, y en dos de ellos (donador A y B) en el tratamiento de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se reduce pero no es estadísticamente diferente, situación que se aprecia mejor al promediar los datos de los tres donadores (**Figura 10**).

En cuanto al análisis de las ACE en la cual se incluyen las de tipo cromatídico, tipo cromosómico y las brechas (dentro de esta se sumaron las isobrechas), se puede apreciar incremento en la frecuencia de ambos tipos de aberraciones y también en la presencia de brechas en varias de las metafases de los cultivos de los tres donadores tratados con el acetato de talio, incremento que va acompañado por el aumento de células con

RESULTADOS

aberraciones estructurales sin brechas, es decir, células en metafase con al menos una aberración sin incluir aquellas células que solo tenían brechas (**Cuadro IV**).

Dentro de las aberraciones que pudieron observarse en este estudio se encuentran los rompimientos, las deleciones o pérdidas y las minutas terminales e intersticiales, cada una de ellas contada como una aberración.

Al realizar la suma para obtener el total de la frecuencia de ACE con o sin brechas se obtuvieron algunas diferencias estadísticas en los tratamientos con talio respecto a los testigos, donde las diferencias aparecen a partir de la concentración de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lo que demuestra que hay inducción de aberraciones por el químico (**Cuadro IV**) y que se confirma al realizar el análisis del promedio de los tres donadores (**Figura 11**).

Los datos de la evaluación de las ACN se muestran en el **Cuadro V** y en la **Figura 12**. En estas se incluyen las células con aneuploidías (hipoploidías e hiperploidías) así como las células poliploides, a demás del porcentaje de células con ACN de las 200 células analizadas por cada tratamiento por cada donador y su comparación estadística con respecto a su testigo.

Para cada donador el número de células con aneuploidías es mayor respecto a cada testigo; en el caso las células hipoploides $2n-3$ se encontró aumento en los cultivos tratados con acetato de talio en los tres donadores específicamente en la concentración de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Las hiperploidías también consideradas en este estudio, fueron cuantificadas sin embargo se encontraron en cantidad mínima, únicamente se observaron dos en los tratamientos de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para el donador C. Las poliploidías encontradas, células $4n$, también fueron pocas, al menos se observó una en cada cultivo celular tratado con el talio (**Cuadro V**).

RESULTADOS

En cuanto al número total de células aneuploides o poliploides expresado como porcentaje (**Cuadro V**), se observaron cambios significativos en la concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$, resultado que se confirmó al realizar el análisis del promedio de los tres donadores (**Figura 12**).

Los valores de la frecuencia de AS se incluyen en el **Cuadro VI**. El análisis estadístico de la frecuencia de AS por célula, cromosomas acrocéntricos asociados de grupo D y G, así como el porcentaje de células con AS muestran algunos cambios poco consistentes entre donadores. Para el donador A en el tratamiento de 5 $\mu\text{g/mL}$ los cromosomas asociados de grupo G se incrementan estadísticamente, sin embargo disminuyen los valores de los cromosomas asociados del grupo D o del grupo G, así como la participación de ambos (D+G) en las asociaciones en la concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$, con diferencias estadísticas en los donadores B y C en estos tratamientos. Con relación a las AS por célula y al porcentaje de células con asociaciones hay reducción significativa en las concentración antes mencionadas; para el donador A el porcentaje de células con AS, para el B en las AS/célula y para el donador C en ambas mediciones. Cuando se realizó el análisis promediando los datos de los tres donadores no se observó reducción significativa en el porcentaje de células con AS de los cultivos tratados con acetato de talio (**Figura 13**).

RESULTADOS

Cuadro IV. Índice mitótico(IM) y frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) del *cultivo in vitro* de linfocitos humanos tratados con acetato de talio

Concentración de acetato de talio en µg/mL	IM (X ± EE)	Frecuencia de ACE						Células con ACE en %
		Células analizadas	Cromatídicas	Cromosómico	Brechas	Total de ACE		
						con brechas	sin brechas	
Donador A								
0	2.05 ± 0.20	200	0	0	1	1	0	0.0
0.5	1.55 ± 0.14	200	1	1	3	5	2	1.0
1	1.22 ± 0.16 ^a	200	2	0	0	2	2	1.0
5	1.77 ± 0.16	200	2	1	1	4	3	1.5
10	1.05 ± 0.09 ^a	200	5	2	5	12 ^b	7 ^b	3.5
50	0.12 ± 0.14 ^b	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-
Donador B								
0	2.55 ± 0.14	200	0	1	3	4	1	0.5
0.5	1.60 ± 0.26	200	2	2	3	7	4	2.0
1	1.25 ± 0.17 ^b	200	7	3	4	14 ^a	10 ^b	5.0
5	1.97 ± 0.42	200	1	3	3	7	4	2.0
10	1.50 ± 0.23 ^a	200	9	7	5	21 ^a	16 ^b	8.0 ^a
50	0.12 ± 0.18 ^b	-	-	-	-	-	-	-
100	0.07 ± 0.10 ^b	-	-	-	-	-	-	-
Donador C								
0	3.27 ± 0.26	200	1	0	1	2	1	0.5
0.5	2.52 ± 0.23	200	0	1	4	5	1	0.5
1	1.80 ± 0.15 ^b	200	1	0	2	3	1	0.5
5	2.57 ± 0.16 ^b	200	3	3	2	8	6	3.0
10	0.62 ± 0.16 ^b	147	3	0	2	5	3	2.0
50	0.02 ± 0.07 ^b	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-

^a P < 0.01 y ^b P < 0.005 comparado con su testigo
 IM de 4000 células por donador por concentración, prueba de Z de proporciones
 ACE con prueba χ^2

RESULTADOS

Cuadro V. Frecuencia de aberraciones cromosómicas numéricas (ACN) en cultivos de linfocitos humanos expuestos *in vitro* al acetato de talio

Concentración de acetato de talio en $\mu\text{g/ml}$	Frecuencia de ACN						Células con ACN en %	
	Células analizadas	Hipoploidías			Células (2n)	Hiperploidías (2n+1)		Poliploidías (4n)
		(2n-3)	(2n-2)	(2n-1)				
Donador A								
0	200	0	4	4	192	0	0	4.0
0.5	200	0	6	9	185	0	0	7.5
1	200	0	5	9	186	0	0	7.0
5	200	0	2	5	193	0	0	3.5
10	200	7	13	10	169	0	1	15.5 ^a
50	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-
Donador B								
0	200	0	10	6	184	0	0	8.0
0.5	200	0	14	9	176	0	1	12.0
1	200	0	5	1	191	0	3	4.5
5	200	0	7	2	190	0	1	5.0
10	200	4	9	4	182	0	1	9.0
50	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-
Donador C								
0	200	7	4	9	180	0	0	10.0
0.5	200	11	12	11	166	0	0	17.0
1	200	9	8	14	169	0	0	15.5
5	200	6	8	8	175	2	1	12.5
10	147	40	7	2	98	0	0	33.3 ^b
50	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-

^a $P < 0.01$ y ^b $P < 0.005$ comparado con su testigo, prueba de prueba χ^2

RESULTADOS

Cuadro VI. Frecuencia de asociaciones de satélite (AS), frecuencia de cromosomas asociados del grupo D y G de cultivos de linfocitos humanos tratados *in vitro* con acetato de talio

Concentración de acetato de talio en $\mu\text{g/ml}$	Células analizadas	Frecuencia AS				Células con AS en %
		AS/célula \pm EE	Grupo D \pm EE	Grupo G \pm EE	Grupo D + G \pm EE	
Donador A						
0	200	0.98 \pm 0.05	0.91 \pm 0.07	1.16 \pm 0.08	2.07 \pm 0.11	72.0
0.5	200	1.01 \pm 0.06	0.93 \pm 0.07	1.29 \pm 0.09	2.22 \pm 0.13	69.0
1	200	1.03 \pm 0.05	0.79 \pm 0.06	1.37 \pm 0.08	2.17 \pm 0.12	74.5
5	200	1.17 \pm 0.06	1.21 \pm 0.08 ^a	1.31 \pm 0.07	2.52 \pm 0.12	77.5
10	200	0.77 \pm 0.06	0.70 \pm 0.07	0.93 \pm 0.08	1.63 \pm 0.13	52.5 ^a
50	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-
Donador B						
0	200	1.76 \pm 0.05	2.33 \pm 0.09	1.69 \pm 0.08	4.02 \pm 0.13	94.0
0.5	200	1.85 \pm 0.06	2.37 \pm 0.10	1.65 \pm 0.08	4.02 \pm 0.14	93.0
1	200	1.83 \pm 0.07	2.46 \pm 0.11	1.71 \pm 0.09	4.17 \pm 0.16	90.0
5	200	1.72 \pm 0.06	2.22 \pm 0.10	1.57 \pm 0.07	3.79 \pm 0.14	89.0
10	200	1.45 \pm 0.06 ^b	1.86 \pm 0.10 ^a	1.41 \pm 0.08	3.27 \pm 0.15 ^b	82.0
50	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-
Donador C						
0	200	1.80 \pm 0.05	2.49 \pm 0.09	1.49 \pm 0.07	3.98 \pm 0.13	94.5
0.5	200	1.68 \pm 0.06	2.34 \pm 0.10	1.44 \pm 0.07	3.78 \pm 0.14	91.0
1	200	1.69 \pm 0.06	2.45 \pm 0.10	1.42 \pm 0.07	3.87 \pm 0.14	90.5
5	200	1.76 \pm 0.06	2.72 \pm 0.10	1.39 \pm 0.07	4.11 \pm 0.14	91.5
10	147	1.25 \pm 0.06 ^c	1.65 \pm 0.09 ^c	1.15 \pm 0.08 ^a	2.80 \pm 0.14 ^c	82.0 ^a
50	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-

^a P < 0.05, ^b P < 0.01 y ^c P < 0.005, comparado con su testigo
 Frecuencia de AS con prueba de ANOVA seguida de Tukey
 Células con AS con prueba de χ^2

RESULTADOS

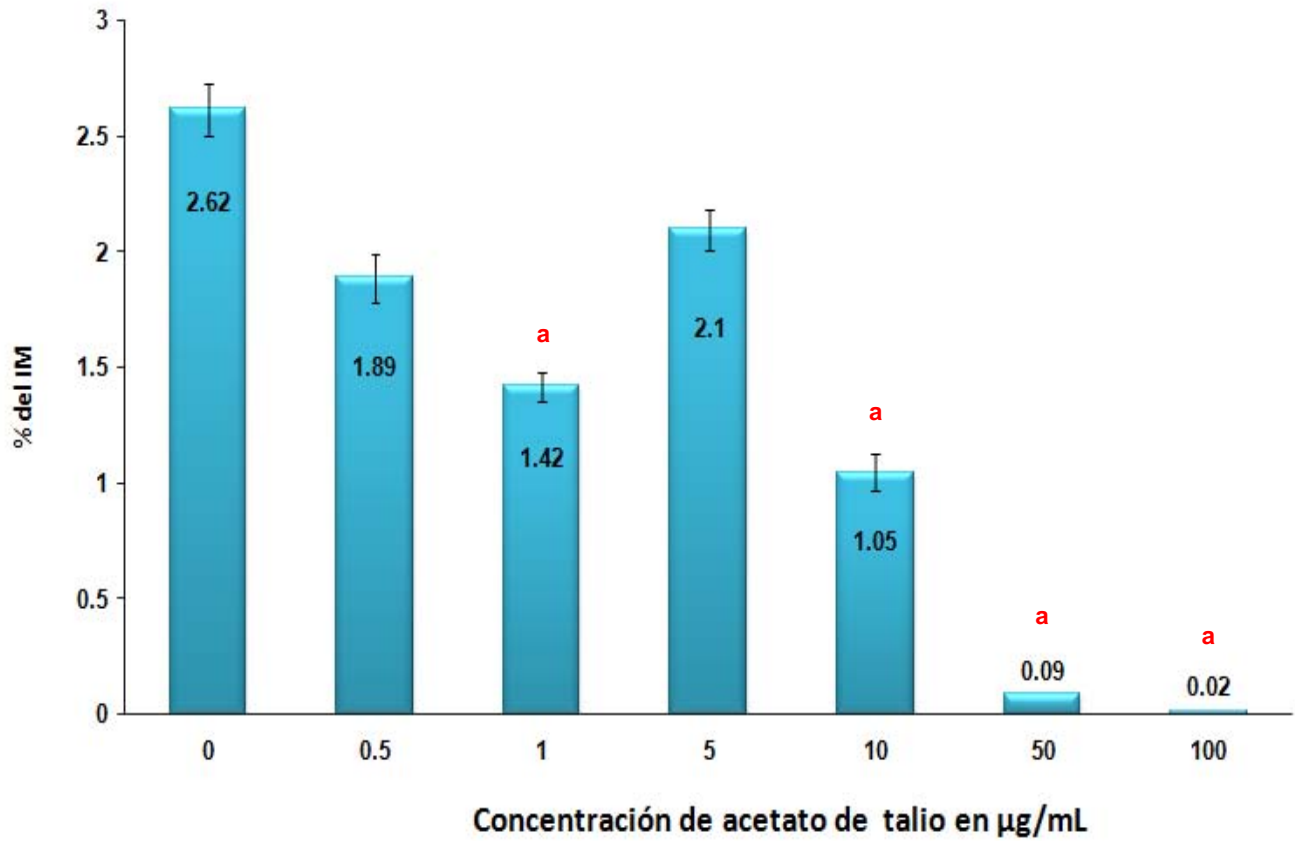


Figura 10. Efecto del acetato de talio en el índice mitótico (IM), promedio de los tres donadores.
^a $P < 0.005$ comparado con el testigo (0 µg/mL), prueba de Z para proporciones.

RESULTADOS

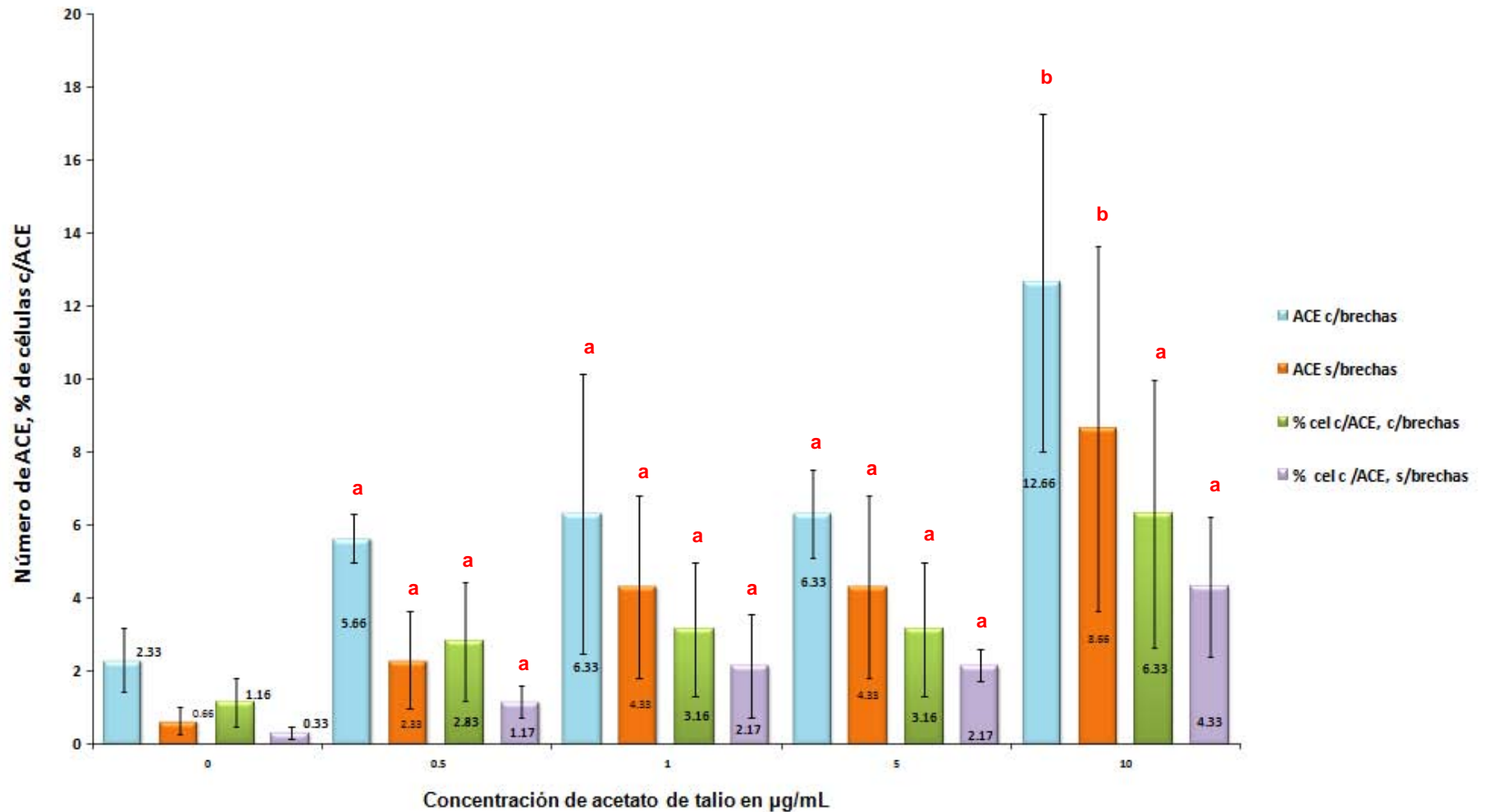


Figura 11. Incremento de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) y porcentaje de células con ACE inducidas por el acetato de talio, promedio de los tres donadores. ^a $P < 0.05$ y ^b $P < 0.005$ comparado con el testigo (0 µg/mL), prueba de ji^2 .

RESULTADOS

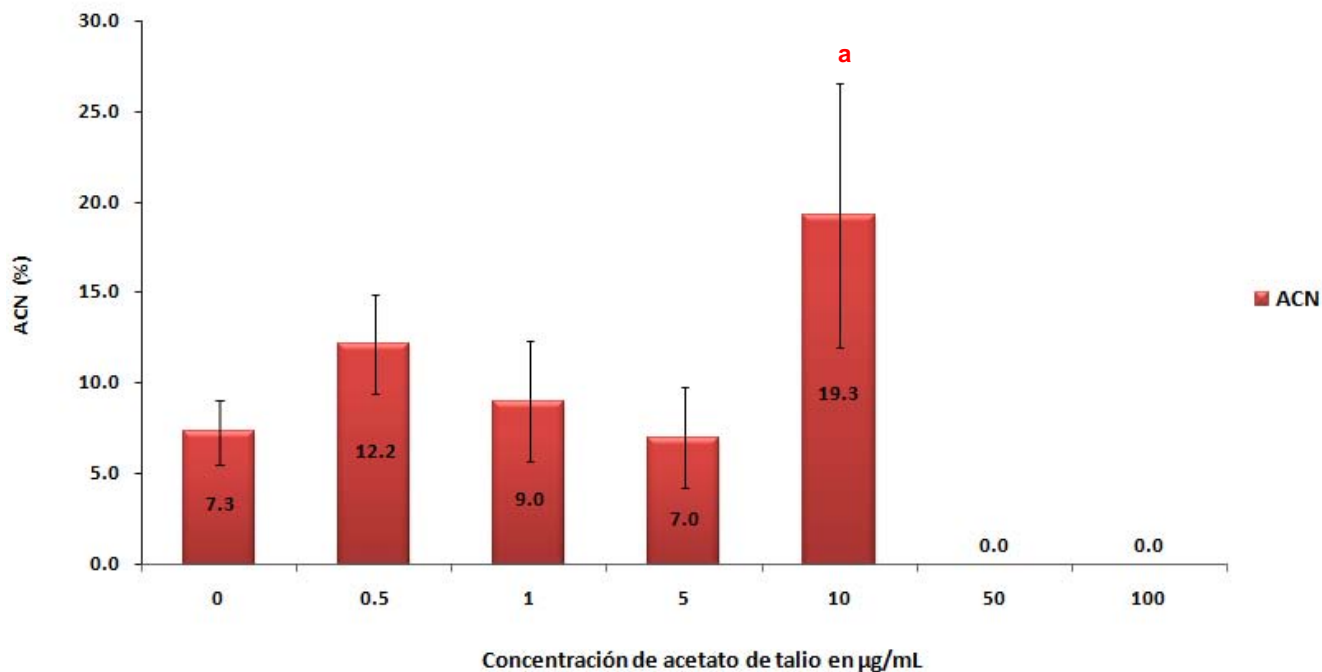


Figura 12. Efecto del acetato de talio en la inducción de aberraciones cromosómicas numéricas (ACN), promedio de los tres donadores. ^a $P < 0.01$ comparad con el testigo (0 µg/mL), prueba de ji^2 .

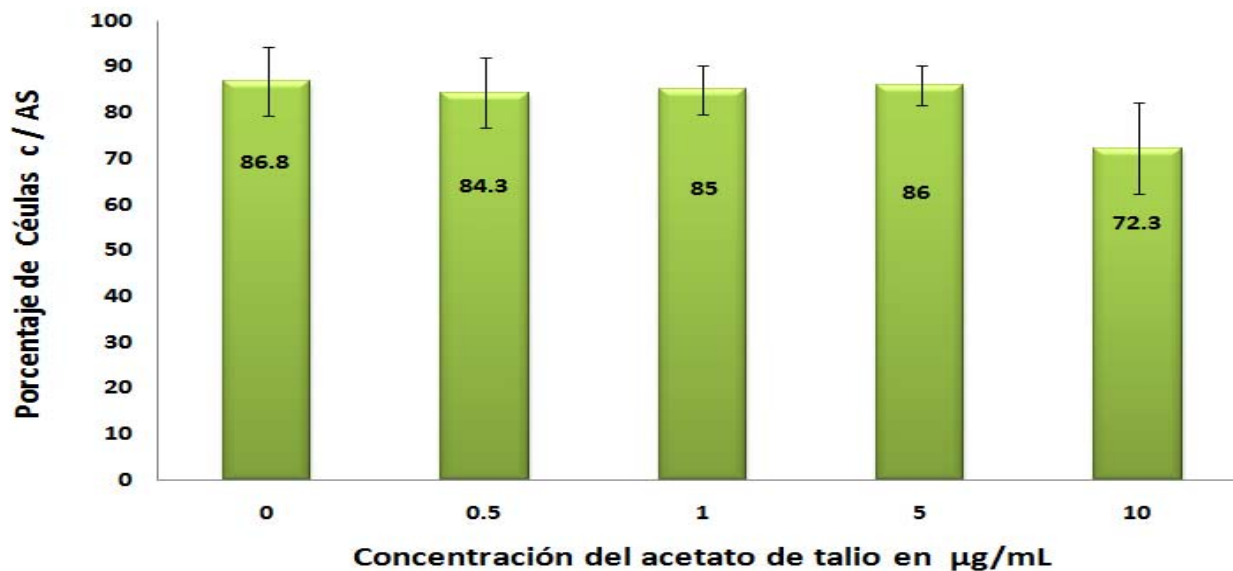


Figura 13. Efecto del acetato de talio en las células con asociaciones satélite (AS), promedio de tres donadores.

10. DISCUSIÓN

Existen estudios que describe la toxicidad del talio, por ejemplo en humano y modelos de experimentación se conoce que produce efectos cardiotoxico, neurotóxico, así como algunos efectos sobre la reproducción y el desarrollo (Martínez *et al* 2003, Cvjetko *et al* 2010), sin embargo desde el punto de vista de la bioquímica celular se desconoce su mecanismo de acción, así como el efecto durante el proceso de la división celular, en la fase de síntesis del ADN y sobre los cromosomas. Por lo anterior, el objetivo en este estudio fue evaluar la capacidad del acetato de talio para inducir daño celular y cromosómico en cultivo de linfocitos humanos tratados *in vitro* con acetato de talio utilizando los parámetros citogenéticos de IM, ACE, ACN y AS, con la muestra de tres donadores.

Las variaciones encontradas en los valores del grupo testigo, es decir, a los cultivos que no se les aplico talio, de los distintos parámetros evaluados de los tres donadores son considerados basales. Esta variación interindividual es debida a factores intrínsecos, propios de cada donador, determinados por la constitución genética, metabolismo, capacidad de reparación del ADN, la edad, entre otros, así también se ve influenciada por factores externos como el estilo de vida, los aspectos de nutrición y el ambiente. Diversos reportes en los que utilizan muestras de sangre periférica en cultivo y otro tipo de células respaldan los datos de este estudio, de hecho la diferencia entre cultivos celulares provenientes de donadores es conocida como susceptibilidad individual (Hansson 1970, Ramírez *et al* 1997, Yadav y Seth 1998, Albertini *et al* 2000).

Con respecto al IM, el acetato de talio es capaz de inhibir el porcentaje de células que entran en mitosis, lo cual se refleja en la disminución de este parámetro, disminución que presenta un comportamiento dosis dependiente donde a mayor concentración la inhibición de la proliferación celular es del 100 % como se aprecia en los tratamientos de 100 µg/mL en dos de los donadores (**Cuadro IV**).

DISCUSIÓN

La diferencia estadística del IM se deben posiblemente a que las células como se menciono anteriormente no completan la mitosis, debido por un lado a que se inhibe la proliferación por que las células se detienen en alguna parte del ciclo celular y por el otro a que en la célula se desencadenan procesos de muerte celular como la apoptosis, lo anterior da como resultado una reducción en el número de células que conservan la capacidad de continuar en el ciclo y dividirse. Además en ciertas concentraciones, como es el caso de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, el metabolismo de algunas enzimas posiblemente activa algún proceso de desintoxicación y sobrevivencia para las células lo cual les permite continuar el ciclo celular (**Cuadro IV y Figura 12**).

El acetato de talio origina el ion Tl^+ considerado más estable y tóxico que otros de sus iones, por ejemplo el Tl^{3+} . Parte de la citotoxicidad observada en este estudio puede ser ocasionada por el parecido que tiene este ion con algunos cationes metálicos, como el Na^+ o el K^+ , propiciando a su vez que el Tl sea confundido e ingrese al interior de las células y de esta manera permanezca secuestrado por distintos orgánulos membranosos entre ellos las mitocondrias. Al respecto se piensa que el Tl^+ afecta las funciones que dirige la membrana alterando y bloqueando procesos bioquímicos (Britten y Blank 1968, Kenneth *et al* 1989, Galván-Arzate y Santamaría 1998, Cheng-Hang y Tser-Sheng 2005, Mitchell *et al* 2007). Incluso parte de su toxicidad puede estar mediada por la concentración a la que las células estén expuestas así como con el intercambio iónico alterando la permeabilidad de la membrana celular.

Entre los procesos que modifica el Tl se encuentran la funcionalidad de las ATP-asa dependientes de Na^+/K^+ y Mg^{++} , además por su elevada afinidad por los grupos sulfhídrido de los aminoácidos interviene con la función de ribosomas y por lo tanto con la síntesis de proteínas, así como su preferencia por las mitocondrias causa perturbación de la cadena respiratoria (Galván-Arzate y Santamaría 1998, Cheng-Hang y Tser-Sheng 2005, Mitchell *et al* 2007).

DISCUSIÓN

Existen metales como el fierro, cobre, cadmio, cromo, mercurio, níquel y vanadio, entre otros que son capaces de provocar daños al material genético, afectan la síntesis y el metabolismo de los ácidos nucleídos (ADN y ARN), a demás pueden interactuar con otras biomoléculas alterando los procesos celulares (Valko *et al* 2005). Ya que algunos agentes químicos que tienen la capacidad de inhibir el IM también pueden inducir daño al material genético (Güerci *et al* 2000, Kirkland y Muller 2000,)

El análisis citogenético de ACE es uno de los más utilizados para detectar compuestos con efectos genotóxicos, mutagénicos y cancerígenos. En la literatura, este análisis se recomienda para detectar daños provocados en la estructura de cromosomas, de ahí la importancia de su evaluación, ya que la pérdida o ganancia de material genético, así como cualquier otro tipo de daño cromosómico es determinante en la salud y funcionalidad de todo organismo. Las lesiones provocadas al material genético muchas veces inducen rompimientos en la cadena de ADN que participan en la formación de ACE y son promotoras de mutaciones puntuales y re arreglos cromosómicos (Evans 1984, Güerci *et al* 2000, Natarajan 2002, Obe *et al* 2002).

En los resultados obtenidos del análisis de ACE, en la categoría que no incluye la suma de brechas, se lograron observar ACE en todas las concentraciones y se incremento el número conforme aumenta la concentración. A demás en las ACE que incluyen brechas, así como en el porcentaje total de células con ACE, mostraron valores significativos en las mismas concentraciones de 10 µg/ml, con la misma tendencia, donde posiblemente la capacidad del TI para inducir daño cromosómico es la causante de la falta de material analizable en las concentraciones de 50 y 100 µg/ml, y por lo tanto de la toxicidad en estas últimas concentraciones.

Por las lesiones inducidas en cromosomas se puede considerar que el CH₃COOTI tiene efecto genotóxico y por los rompimientos provocados puede considerarse agente clastógeno. Sin embargo, las brechas observadas y contempladas en otra categoría, y que en la literatura están sujetas a discusión de ser daño real al ADN (Savage 2004), ya que

DISCUSIÓN

pueden ser consideradas lesiones importantes en el daño provocado por el acetato de talio.

Respecto a los datos de la evaluación de la frecuencia de AC indican que el acetato de talio es inductor de daño cromosómico (**Cuadro IV y Figura 13**). Sin embargo no es un inductor potencial comparado como otros metales (Güerci *et al* 2000), pero quizás los datos obtenidos tengan alguna repercusión biológica.

En otros estudios el análisis de linfocitos de trabajadores de una fundidora de zinc se detectó incremento de plomo y cadmio, El número de células que presentan ACE, se incrementó significativamente en comparación con los controles. El daño cromosómico se observó principalmente en el tipo cromatídico, fragmentos acrocéntrico, rupturas e intercambios) (Bauchinger *et al* 1976), además en otros estudios *in vitro* realizados con cadmio los resultados mostraron mayor índice en las aberraciones cromosómicas estructurales. Las posibles razones para contrastar los hallazgos sobre los efectos perjudiciales al cromosoma provocados por cadmio se debe a que en otros informes publicados se discuten la posibilidad de que los metales pesados pueden actuar sinérgicamente e incrementan la mutagenicidad de compuestos (O'Riordan *et al* 1978).

Otro tipo de AC son las de número de cromosomas, que contribuye a la variación de la carga genética responsable de abortos involuntarios e hijos con deficiencias físicas, fisiológicas, y mentales como resultado de la pérdida o ganancia de uno o más cromosomas durante la división de células haploides (n) o diploides (2n).

Las ACN son responsables de ocasionar daño en células germinales humanas que provocan esterilidad, abortos, mutaciones, malformaciones congénitas, entre otros efectos, con daños en órganos e incluso pueden conducir a la muerte (Evans 1984). En células somáticas 2n inducen síndromes, también contemplan la variación de haploidias, entre las que se encuentran las poliploidías, capaces de inducir la formación de tumores en humano y favorecer la progresión del cáncer (Riabchenko *et al* 2008).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, en la evaluación de la frecuencia de ACN (**Cuadro V**), se encontraron incrementos del número de hipoploidías, es decir, pérdidas de 1 a 3 cromosomas en metafases, a demás de que en los tratamientos con talio se indujeron hiperploidías y poliploidías, que a pesar de que su valor es bajo son poco trascendentales, más aun en las diferencias estadísticas del porcentaje de los promedios.

Un fenómeno relacionado con el origen de las ACN en células somáticas es la mala segregación de los cromosomas, el cual se presenta cuando una célula gana o pierde un cromosoma durante la división celular. Cuando hay pérdida cromosómica se puede dar por un rezago durante la separación en anafase ya que fallan las fibras del huso mitótico al anclarse, se conoce que varias sustancia química con efecto tóxico intervienen con el huso durante la división celular y provocan que los cromosomas permanezcan fuera de la placa de la metafase y consecuentemente sean mal segregados durante la anafase (Mitchell *et al* 2007, Güerci *et al* 2000, George 2002, Kirsch-Volders *et al* 2002). Las células germinales también pueden ser afectadas por este proceso que es conocido como no-disyunción.

Las aneuploidías pueden surgir por la capacidad de compuestos o químicos conocidos como aneudogenos, donde se sospecha que posiblemente tienen como blanco de acción alterar las proteínas del cinetocoro o por alterar la polimerización y despolimerización de la tubulina que forma el huso mitótico (Mitchell *et al* 2007, Kirsch-Volders *et al* 2002, George 2003, Riabchenko *et al* 2008). Estos eventos posiblemente también este involucrados en el incremento de ACN por el TI, ya que este metal tiene afinidad por los grupos sulfidrilo de las proteínas, y nos indican que el talio puede inducir efecto tóxico en la formación y función de proteínas implicadas en la división celular que afectan el reparto cromosómico.

Las AS son importantes por estar implicadas en trisonomías cromosómicas de los grupos acrocéntricos D y G del cariotipo humano (Houghton, 1979, Anuradha *et al* 2002), estas variaciones son el origen de alteraciones graves a la salud y son un indicador de toxicidad a proteínas y enzimas implicadas en la organización nucleolar, en algunos estudios

DISCUSIÓN

realizados se han encontrado incrementos de AS. Se ha reportado evidencia del incremento de AS en mujeres con abortos espontáneos (Anuradha *et al* 2002).

Algunos autores han observado en estudios la incidencia de AS ha sido considerada como predisponentes a un incremento en la no-disyunción de cromosomas satelitados y así en la inducción de trisomias que involucran a los cromosomas D y G (Houghton 1979). Sin embargo, los compuestos mutágenos que tienen efecto directo o indirecto en la tubulina pueden influir y modificar la frecuencia del parámetro de asociación de cromosomas acrocéntricos (Kirsch-Volders *et al* 1978), pero al parecer no es el caso del TI y la inducción de aneuploidías es azarosa y no está relacionada con las AS.

Los resultados de la frecuencia de asociaciones satélite muestran que el acetato de talio no incrementa el número de AS y a pesar de que hay ligeras reducciones no son significativas (Cuadro V y Figura 15), lo cual indica que el acetato de talio no muestra un efecto ante la inducción de AS más aun en los porcentajes, dicho de otro modo, los resultados obtenidos nos indican que el talio no muestra efectos claros en la inducción de AS, al menos no provoca cambios consistentes y considerables en las asociaciones de los cromosomas acrocéntricos.

En otros estudios efectuados en el laboratorio, y en los que utilizaron el mismo modelo de linfocitos humanos, encontraron que el compuesto metálico pentóxido de vanadio (V_2O_5) no induce ACE, pero sí incrementa las poliploidías y redujo el IM, a demás indujo incremento en la de AS (Roldán y Altamirano 1990, Rodríguez-Mercado *et al* 2010). Por lo anterior indica que algunos compuestos metálicos tienen efecto genotóxico para inducir AS, sin ser buenos inductores de ACE. Sin embargo nuestro estudio con acetato de talio no revelo incremento en la frecuencia de AS. Los valores obtenidos del análisis en la frecuencia de ACE, son bajos y se puede mencionar que el talio no es un excelente inductor de ACE, para detectar otro tipo de daño existen otras pruebas que pueden revelar los efectos, para ampliar y comparar estos estudios como; la prueba de FISH (Fluorescente *in situ* hybridization) con tinción de centromero, micronúcleos (MN) o

DISCUSIÓN

electroforesis celular o mejor conocido ensayo cometa para revelar otro tipo de daño al ADN que no puede ser percibido con la prueba de ACE *in vitro* (Migliore *et al* 1999, García-Rodríguez *et al* 2001, Virag *et al* 2009).

CONCLUSIONES

11. CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

- El acetato de talio disminuye el índice mitótico en las concentraciones de 0.5, 1, 5 y 10 $\mu\text{g/ml}$ e inhibe la mitosis en un 100% en concentraciones de 50 y 100 $\mu\text{g/ml}$, por lo que se le puede considerar un agente citotóxico.
- El análisis de las metafases mostró que el acetato de talio es capaz de incrementar la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (incluyendo y excluyendo las brechas) y en el porcentaje de células aberrantes en las concentraciones de 0.5 a 10 $\mu\text{g/ml}$, por lo que se le puede considerar agente clastógeno.
- El incremento de las brechas en la evaluación global de ACE, coloca las brechas como lesiones que deben considerarse en el análisis porque posiblemente son importantes en la inducción del daño cromosómico inducido por el acetato de talio.
- El incremento de aneuploidias, en particular células $2n-3$ en la concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$, y las poliploidías encontradas en los cultivos tratados con el acetato de talio, sugieren que este metal interfiere con el proceso normal de división y este efecto puede ser producido por alteración en la función del huso.
- El incremento de las AC tanto numéricas como estructurales sugiere que acetato de talio tiene efectos genotóxicos.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Franco M, Natarajan AT, Norppa H, Shuker DEG, Tice R, Waters MD y Aitio A. 2000. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research*. 463 111-172.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. 2002. Biología molecular de La célula. Tercera edición. Ediciones Omega, S. A Barcelona. 360-375 p.
- Allus MA, Martin MH y Nickless G. 1987. Comparative toxicity of thallium to two slant species. *Chemosphere*. 16, 929-932.
- Anuradha N, Satyanarayana M y Manjunatha KR. 2002. Satellite Associations in Recurrent Aborter. *IJHG*. 2(I) 61-64.
- Arni P y Hertner T. 1997. Chromosomal aberrations in vitro induced by aneugens. *Mutation Research*. 379 (1) 83-93.
- ATSDR, Agency for Toxic substances and disease registry. 1995. Thallium: Cas 7440-28-0. Departamento de salud y servicios humanos de EUA. www.atsdr.cdc.gov/es/
- Barrera HC, Pardo LC y Cortina GD. 2008. Evaluación del efecto genotóxico del Antracol WP 70 en cultivos de linfocitos humanos. *Colombia Médica*. (2) 29-34.
- Bauchinger M, Schmid E, Einbrodt HJ y Dresch J. 1976. Chromosome aberrations in lymphocytes after occupational exposure to lead and cadmium. *Mutation Research*. 40(1) 57-62.
- Bender MA, Griggs HG y Bedford JS. 1974. Mechanisms of chromosomal aberration production III. *Chemicals and ionizing radiation*. 23 197-212.
- Bignold LP. 2009. Mechanisms of clastogen-induced chromosomal aberrations: A critical review and description of a model based on failures of tethering of DNA strand ends to strand-breaking enzymes. *Mutation Research*. 681 271-298.
- Bingham E, Cochrane B, Powell C H. 2001. Patty's Toxicology. Editorial Elsevier Vol 2. Quinta edición, Nueva York, 484-586.
- Blum KS y Pabst R. 2007. Lymphocyte numbers and subsets in the human blood. Do they mirror the situation in all organs? *Immunology Letters*. 108 45-51.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Borgmann U, Chenam V, Norwood WP y Lechner J. 1998. Toxicity and bioaccumulation of thallium in *Hyalella azteca*, with comparison to other metals and prediction of environment impact. *Environment Pollution*. 99 105-114.
- Britten JS y Blank M. 1968. Thallium activation of the (Na⁺ - K⁺) Activated ATPase of rabbit kidney. *Biochemical et Biofisica Acta*. 65732 160-166.
- Brockhaus A, Dolgner R, Ewers U, Krämer U, Soddemann H y Wiegand H. 1981. Intake and health effects of thallium among a population living in the vicinity of a cement plant emitting thallium containing dust. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 48 375-389.
- Budavari S, Maryadele J, Smith A y Heckelman P. 1996. The Merck index: Encyclopedia of chemicals, drugs and biological. Decima primera edición, Editorial Assistantente. EUA. 1458 p.
- Carrano AV y Natarajan AT. 1988. International Commission for Protection Against Environmental mutagens and Carcinogens (ICPEMC). Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutation Research*. 204 379-406.
- Carson BL, Elli IIIHV y McCann JL. 1987. Thallium: mammalian toxicity summary. Toxicology and biological monitoring of metals in Human. Including Feasibility and Need. Lewis EUA. 243-254 p.
- Cauerhff A, Docena HG, Fossati CA y Goldbaum FA. 2006. Respuesta inmune anticuerpos, alergias, vacunas y reproducción humana. 1° edición. Editorial eudeba. Buenos aires. 9-13 p.
- Chemical Abstracts Service (CAS) a división of the American chemical Society. 2010. On line. En ingles. 29 de marzo del 2011. URL: www.cas.org.
- Chen T, Liu X, Li X, Zhao K, Zhang J, Xu J, Shi J y Dahlgren RA. 2009. Heavy metal sources identification and sampling uncertainty analysis in a field-scale vegetable soil of Hangzhou, China. *Environmental Pollution*. 157 1003-1010.
- Cheng-Hang L y Tser-Sheng L. 2005. Acute toxicity of trivalent thallium compounds to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 61 432-435.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cooke P y Curtis DJ. 1974. General and specific patterns of acrocentric association in parents of mongol children. *Humangenetik*. 23; 279-287.
- Cuenca P y Ramírez V. 2004. Aberraciones cromosómicas en trabajadoras expuestas a plaguicidas. *Revista. Biología. Tropical*. 52(3): 623-628.
- Cvjetko P, Cvjetko I y Pavlica M. 2010. Thallium toxicity in humans. *Arh Hig Rada Toksikol*. 61(1):111-119.
- Delvals TA, Sáenz V, Arias AM y Blasco J. 1999. Thallium in the marine environment first ecological assessments in the Guadalquivir estuary and its potential adverse effect on the Doñana European natural reserve after the Aznalcóllar mining spill (Sw Spain). *Ciencias Marinas*. 25 (2) 161-175.
- EPA. Environmental Protection Agency. 2009. Washington, DC. Toxicological review of thallium and compounds. www.epa.gov/iris.
- EPA-HETG-OPPTS 870.5385 Mammalian bone marrow chromosome aberration test. 1998. Prevention, Pesticides and Toxic Substances. (7101). 712-C-98-225.
- Evans HF. 1984. Handbook of mutagenicity test procedures; Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of Chromose aberrations in mutagen tests. Segunda edición. Editores. Kilbey BJ, Egator MI, Nicolas W y Ramel C. Capítulo 18, 406-427.
- Facchinelli A, Sacchi E y Mallen L. 2001. Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils. *Environmental Pollution*. 114; 313-324.
- Ferguson-Smith MA y Handmaker SD . 1961. Observations on the Satellited Human chromosomes. *The lancet*. 277 638-640.
- Ferguson-Smith, Malcolm A, Handmaker SD y Hopkins ABJ. 1961. Observations on the Satellited Human Chromosomes. *The Lancet*. 277 638-640.
- Freifelder D. 1988. Fundamentos de Biología Molecular. Ed Acribia. España. 27-31 p.
- Friberg Ly Elinder CG. 1993. Biological monitoring of toxic metals. Scand J Work. *Environment Health*. 19 (1); 7-13.
- Galván-Arzate S y Santa maría A. 1998. Thallium toxicity. *Toxicology Letters* 99 :1-13.
- Gani R. 1978. Nucleoli of Cultured Human Lymphocyte. *Human Genetics*. 42(3); 271-282.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- García-Rodríguez MC, López-Santiago V, Altamirano-Lozano M. (2001). Effect of chlorophyllin on chromium trioxide-induced micronuclei in polychromatic erythrocytes in mouse peripheral blood. *Mutation Ressearch*. 496(1-2):145-151.
- George H S. 2003. Genética Médica. Primera edición, Editorial Mc Graw-Hill, México, 55 p.
- Güerci A, Seoane A y Dulout FN. 2000. Aneugenic effects of some metal compounds assessed by chromosome counting in MRC-5 cells. *Mutation research*. 469 35-40.
- Hansson A. 1970. Differences in the association pattern in the human population. *Hereditas*. 66 21-30.
- Heydlauf H. 1969. Ferric-cyanoferrate (II): an effective antidote in thallium poisoning. *European Journal Pharmacology*. 6(3) 340-4.
- HNAPO, Historia de Nuestra América, Los Pueblos Originarios. 1991. Centro de Estudios Latinoamericanos. Santiago de Chile. Ediciones Cela. Inscripción NO 80.497. ISBN 956-7172-01-2.
- Houghton JA. 1979. Relationships between satellite association and the occurrence of non-disjunction in man. *Mutation research*. 61 103-114.
- IPCS, International Program on Chemical Safety. 1985. Environmental health criteria 46. Guidelines for the study of genetic effects in human populations. 26-44 p.
- IPCS, International Program on Chemical Safety. 1992. Environmental health criteria 182. *Thallium*, 114 p.
- IPCS, International Program on Chemical Safety. 1996. Environmental health criteria 182. *Thallium*. 116 p.
- IRIS, In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System. 2008. *Toxicological Review of Thallium and Compounds*. 1-75.
- Jha S, Kumar R, Kumar R. 2006. Thallium poisoning presenting as paresthesias, paresis, psychosis and pain in abdomen. *J Assoc Physicians India*. 54 53-5.
- Jiménez CBE. 2001. La contaminación ambiental en México, Editorial Limusa, México. 62 p.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- John-Peter AL y Viraraghavan T. 2008. Removal of thallium from aqueous solutions by modified *Aspergillus niger* biomass. *Bioresource Technology*. 99: 618-625.
- Kazantzis G. 2000. Thallium in the environment and health effects. *Environmental Geochemistry and Health*. 22 275-280.
- Kenneth T, Douglas MA, Bunni T y Swati R. 1989. Thallium biochemistry. *Introduction Journal. Biochemistry*. 22(5) 429-438.
- Kirkland DJ y Muller L. 2000. Interpretation of the biological relevance of genotoxicity test results: the importance of thresholds. *Mutation Research*. 464: 137-147.
- Kirsch-Volders M, Hens L, Versch L, Alexander A, Driesen M, Poma K y C Susanne. 1978. Modification of Human Acrocentric associations after *in vivo* exposure to environmental mutagens. *Acta antropogenetica*. 3 1-16.
- Kirsch-Volders M, Vanhauwaert A, De Boeck M y Decordier I. 2002. Importance of detecting numerical versus structural chromosome aberrations. *Mutation Research*. Jul 25;504(1-2) 137-48.
- Klug WS, Cummings MR y Spencer CA. 2006. Conceptos de Genética. 8ª Edición. Editorial Pearson Prentice Hall. 12 y 214 p.
- Lehmann PA y Favari L. 1985. Acute thallium intoxication: Kinetic study of the relative efficacy of several antidotal treatments in rats. *Archives of toxicology*. 57; 56-60 p.
- Leónard A y Gerber GB. 1997. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of thallium compounds. *Mutation Research*. 387 47-53.
- Liem SL, Denton TE y Cheng KM. 1977. Distribution patterns of satellite associations in human lymphocytes relative to age and sex. *Clinical Genetics*. 12(2); 104-110.
- Lu CI, Huang CC, Chang YC, Tsai YT, Kuo HC, Chuang YH, Shih TS. 2007. Short-term thallium Intoxication. *Arch Dermatol*. 143; 93-98.
- Marquez M. 1988. Probabilidad y Estadística. UNAM. México.
- Martínez RN, Sant YR, Feldan G y de Martínez VNR. 2003. Registro de pacientes intoxicados con talio en Tucumán luego de la prohibición de su uso como rodenticida en argentina. [Retel] *Revista Toxicológica en línea*. 2-9. www.sertox.com.ar/retel/default.htm.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I, Kirsch-Volders M. 2006. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*. 88; 1515–1531.
- Migliori L, Cocchi L, Nesti C, Sabbioni E. 1999. Micronuclei Assay and FISH Analysis in Human Lymphocytes Treated With Six Metals Salts. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 34 279-284.
- Mitchell SC,. Waring RH y Steventon GB. 2007. Molecules death. Segunda edición. Imperial College Press. Londres UK. 415-421 p.
- Mochizuki M, Mori M, Akinaga M, Yugami K, Oya C, Hondo R y Ueda F. 2005. Thallium contamination in wild ducks in Japan. *Journal Wildlife*. 41 (3) 664-668.
- Montoya CMA, López MG, y García RM. 1985. Intoxicación por talio. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social, México*. 23(1) 65-70.
- Montoya-Cabrera MA, Saucedo-García JM, Escalante-Galindo P y López-Morales E. 1991. *Gaceta Médica de México*. Vol N° 4 Julio-agosto.
- Moran VL. 2001. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Primera edición. Edit. Medica Panamericana. México, 70-76 p.
- Natarajan AT y Palitti F. 2008. DNA repair and chromosomal alterations. *Mutation Research* 657 3-7.
- Natarajan AT. 2002. Chromosome aberrations: past, present and future. *Mutation Research* 504 3-16.
- NCBI, National Center Biotechnology Information. 2010. On line. 29 de marzo del 2011. En ingles. URL <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Nelson DL y Cox MM. 2008. Principles of biochemistry. Quinta edición., Editorial WH Freeman. Nueva York, p 919-922.
- NJDHDS, New Jersey Department of Health and Senior Services. 2000. Thallium acetate. RTK. CAS. 563-68-8. 2-6 p. www.nj.gov/health/.
- Novo-Villaverde FJ. 2004. Genética Humana conceptos, mecanismos y aplicaciones de la genética en el campo de la biomedicina. Editorial Pearson. México. 181-187.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Obe G, Pfeiffer P, Savage JRK, Johannes C, Goedecke W, Jeppesen P, Natarajan AT, Martinez-Lopez, Folle GA y Drets ME. 2002. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. *Mutation Research*. 504 17-36.
- OEHHACEPA, Office of environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency. 1999. Public health goal for thallium in drinking water, 1-20 pp. oehha.ca.gov/water/phg/pdf/thalirs.pdf.
- O'Riordan ML, Hughes EG y Evans HJ. 1978. Chromosome. Studies on blood lymphocytes of men occupationally exposed to cadmium. *Mutation Research*. 58(2-3):305-11.
- Pau P. 2000. Management of thallium poisoning. *Hong Kong Med J*. 6(3):316-318.
- Pfeiffer P, Goedecke W y Obe G. 2000. Mechanisms of DNA double-strand break repair and their potential to induce chromosomal aberrations. *Mutagenesis*. 15. (4)289-302.
- Pierce BA. 2005. Genética un enfoque conceptual. 2da edición, Editorial panamericana. México. Pág. 290-295.
- Pollard TD y Earnshaw WC. 2004. Cell biology. Tercera edición. Saunders Impresiones Elsevier. 670-676 p.
- Radic S, Cvjetko P, Glavas K, Roje V, Pevalek-Kozlina B y Pavlica M. 2008. Oxidative stress and DNA damage in broad bean (*Vicia faba L.*) seedling induced by thallium. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 28 189–196.
- Ramirez P, Eastmond DA, Laclette JP y Ostrosky-Wegman P. 1997. Disruption of microtubule assembly and spindle formation as a mechanism for the induction of aneuploidy cells by sodium arsenite and Vanadium pentoxide. *Mutation research*. 386 291-298.
- Rangel-Guerra R, Martínez HR, Villarreal HJ y Montoya-Cabrera MA. 1990. Intoxicación por talio. Experiencia con 50 pacientes. Academia nacional de medicina. *Gaceta Medica Mexicana*. 126 (6); 487-95.
- Reyes-Castañeda P. 1990. Bioestadística aplicada. Editorial trillas, segunda edición. México, 219 p.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Riabchenko NI, Fesenko EV, Antoshchina MM, Nasonova VA y Kondrashova TV. 2008. The analysis of genomic mutations and structural chromosome aberrations in irradiated human lymphocytes. *Radiats Biol Radioecol.* 48(6) 683-9.
- Ries NL y Dart R C. 2005. New developments in antidotes. *The Medical Clinics of North America.* (6) 1379-97.
- Ries NL y Dart RC. 2005. New developments in antidotes. *The Medical Clinics of North America.* 89; 1379-1397.
- Robson M. 2003. Methodologies for assessing exposures to metals: human host factors. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 56; 104–109.
- Rodríguez-Mercado JJ y Altamirano-Lozano MA. 2006. Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista Internacional Contaminación Ambiental.* 22: 173-189.
- Rodríguez-Mercado JJ, Alvarez-Barrera L, Altamirano-Lozano MA. 2010. Chromosomal damage induced by vanadium oxides in human peripheral lymphocytes. *Drugs Chemical Toxicology.* 2010. (1):97-102.
- Rodríguez-Mercado JJ. 2001. Evaluación de los efectos genotóxico y citotóxico inducidos en cultivos de células de sangre periférica expuestos a tetraóxido de vanadio. Tesis Maestría. UNAM. México.
- Roldán RE y Altamirano LMA. 1990. Chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges, cell-cycle kinetics and satellite associations in human lymphocyte cultures exposed to Vanadium pentoxide. *Mutation Research.* 245:61-65.
- Romero R E, Halabe Cherem J y Lifshitz Alberto. 1989. Hipertensión arterial en la taliotóxicosis aguda. Academia Nacional de Medicina. *Gaceta Medica Mexicana;* 27 (1).
- Rooney DE. 1992. Human cytogenetic; lymphocyte culture. Segunda edición Vol I. The practical approach series. 31-36 p.
- Russell PJ. 2010. ¡Genetics A Molecular Approach. Tercera edición. Editorial Benjamin Cummings, México. 130. P.
- Rusyniak DE, Furbee RB y Kirk MA. 2002. Thallium and arsenic poisoning in a small midwestern town. *Ann Emerg Med.* (3) 307-11.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rusyniak DE, Furbee RB, Kirk MA. 2002. Thallium and arsenic poisoning in a small midwestern town. *Annals of Emergency Medicine*. 307-311.
- Sack GH. 2002. Genética médica. Primera edición. Editorial. Mc Graw-Hill Interamericana. México. 55-76 p.
- Savage JRK. 2004. On the nature of visible chromosomal gaps and breaks. *Cytogenetic Genome Res*. 104 46-55.
- Sigmund J, Schwarzacher HG y Mikelsaar AV. 1979. Satellite association frequency and number of nucleoli depend on cell cycle duration and NOR-activity. *Human Genetics* 50:81-91.
- Sturini M, Maraschi F, Cucca L, Spini G y Profumo A. 2009. Determination of inorganic thallium compounds in the particulate matter of emissions and workplace air by sequential dissolution. *Analytical Sciences* 25 121-124.
- Swierenga SHH, Heddle JA, Sigal EA, Gilman JPW, Brillinger DGR y Nestmann ER. 1991. Recommended protocols based on a survey of current practice in genotoxicity testing laboratories, IV. Chromosomes aberration and sister-chromatic exchange in Chinese hamster ovary, V79 Chinese hamster lung and human lymphocyte cultures. *Mutation Research* 246 301-322.
- Tamarin A. 1996. "Genética". Editorial Reverte, México.
- TJFE , The Jordan Field Epidemiology Training Program was begun in 1998 with funding by the U.S. Agency for International Development and support from CDC. It became independent in 2008 and operates as part of Jordan's Ministry of Health. 2008. Thallium poisoning from eating contaminated cake Iraq, 2008; 57(37); 1015-1018.
- Tremel A, Masson P, Sterchewan T, Baize D y Mench M. 1996. Thallium in French contents in arable soils. *Environmental Pollution* 95(3) 293-302.
- Tromme I, Van Neste D, Dobbelaere F, Bouffioux B, Courtin C, Dugernier T, Pierre P y Dupuis M. 1998. Skin signs in the diagnosis of thallium poisoning. *British journal of dermatology*. 138(2) 321-325.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Tsai YT, Huang CC, Kuo HC, Wang HM, Shen WS, Shih TS y Chu NS. 2006. Central nervous system effects in acute thallium poisoning. *Neurotoxicology*. 27(2) 291-295.
- Tucker JD y Preston RJ. 1996. Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment. *Mutation Research*. 365 147-159.
- US ACHPPM, Army Center for Health Promotion and Preventive Medicine. 2007. Wildlife toxicity assessment for thallium. Proyecto número 37-EJ1138-01. En línea <http://chppm-www.apgea.army.mil/>.
- Valko M, Morris H y Cronin MTD. 2005. Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Current Medicinal Chemistry*. 12; 1161-1208.
- Venitt S y Parry JM. 1984. Mutagenicity testing a practical Approach. Oxford Washington DC.
- Verma RS, Shah JV y Dosik H. 1983. Frequencies of chromosome and chromatid types of associations of nucleolar human chromosomes demonstrated by the N-banding technique. *Cytobios*. 36(141) 25-29.
- Virag P, Brie I, Postescu ID, Perde-Schrepler M, Fischer-Fodor E, Soritau O, Irimie A y Cernea V. 2009. Comparative study of two evaluation methods for the genotoxic effects of environmental heavy metals on normal cells. *Toxicol. Ind. Health*. 25(4-5) 253-258.
- Wayne M Becker, Lewis J Kleinsmith y Jeff Hardin. 2007. El mundo de la célula. Sexta edición. Ed Pearson Addison Wesley. España. 605-610.
- Wei Q, Dr. Li Lei, Dr. Chen D J. C David. 2006. DNA repair, genetic instability, and cancer. *Wold scientific*. USA.
- Wei Qingyi, Li Lei y Chen David J. 2006. DNA repair, genetic instability, and cancer. Publicaciones Worl Scientific EUA. 1-15 p.
- Wierzbicka M, Szarek-Lukaszewska G y Grodzinska K. 2003. Highly toxic thallium in plants from the vicinity of Olkusz (Poland). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 59 84-88.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Yadav JS y Seth N. 1998. Effect of NO_x on the somatic chromosomes of goldsmiths. *Environment. Health perspec.* 106 643-647.
- Yildirim M, Ikbal M, Tos T, Seven B, Pirim I y Varoglu E. 2005. Genotoxicity of thallium-201 in patients with angina pectoris undergoing myocardial perfusion study. *Tohoku J. Expediente. Medico.* 206; 299-304.
- Yildirim M, Ikbal M, Tos T, Seven B, Pirim I y Varoglu E. 2005. Genotoxicity of thallium-201 in patients with angina pectoris undergoing myocardial perfusion study. *Tohoku J Exp Med.* (4) 299-304.
- Zang KD y Back E. 1968. Quantitative studies on the arrangement of human metaphase chromosomes. *Citogenetics.* 7 455-470.
- Zankl H, Mayer C y Zang KD. 1980. Association frequency and silver staining of nucleolus organizing regions in hyperthyroid Patients. *Human genetic.* 54; 111-114.
- Zhou D-X, Liu D-N. 1985. Chronic thallium poisoning in a rural area of Guizhou Province, China. *Journal of Environment and Health.* 48; 14-18.

13. ANEXO



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO



Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

VI Congreso de Investigación en la FES Zaragoza



PROGRAMA

7 – 10 septiembre de 2010



Lobby de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza

15:00-18:00 Carteles

Área Químico Biológica

Moderadores: CD. Arturo Granados Maguey

M en C. Araceli García del Valle

Mtra. Leonor Aguilar Santelises

Castillo-Olivares Blanca, Gómez-Márquez José Luis, Peña-Mendoza Bertha, Guzmán-Santiago José Luis.

Biología reproductiva de *Girardinichthys viviparus* en un lago urbano de la Ciudad de México.

Salgado Ramírez Luis Ángel, Castro Rodríguez Teresa Isabel, Montañó Arias Genaro.

Catálogo de especies del género *Bursera* Jacq ex L. (Burseraceae) de la depresión del Balsas Guerrero, México.

Hernández-de la Cruz H, Altamirano-Lozano MA, Rodríguez-Mercado JJ.

Evaluación del efecto celular y cromosómico en linfocitos humanos expuestos *in vitro* a talio.

Tapia-Pastrana Fernando, Mercado-Ruaro Pedro.

Análisis cariotípico en cromosomas somáticos de *Tamarindus indica* (Leguminosae: Caesalpinioideae).

Saito-Quezada VM, Salgado-Ugarte IH, Gluyas-Millán MG, Gómez-Márquez JL.

Estudio esclerocronológico del caracol *Astraea undosa* en "La Bocana" Baja California Sur, México.

Gil Flores Enrique, Chávez Chora Omar Sadot.

Disolución de pilas Botón en agua regia.

Marcial García Adriana, Cruz Flores Gerardo.

Biomasa microbiana en Bosques templados de México.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



CONSTANCIA

Que se otorga a:

**HERNÁNDEZ-DE LA CRUZ H, ALTAMIRANO-
LOZANO MA, RODRÍGUEZ-MERCADO JJ**

POR SU PARTICIPACIÓN CON LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO LIBRE: **EVALUACIÓN DEL EFECTO CELULAR Y CROMOSÓMICO EN LINFOCITOS HUMANOS EXPUESTOS IN VITRO A TALIO.** EN EL MARCO DEL VI CONGRESO DE INVESTIGACIÓN EN LA FES ZARAGOZA.

Atentamente

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

México, D.F. a 7 de Septiembre de 2010

CD. Alfredo S. Sánchez Figueroa

Director