

26
203.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**EVALUACION DEL INDICE MITOTICO (IM) Y LA
FRECUENCIA DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS
(AC) EN CELULAS DE MEDULA OSEA DE RATON
TRATADAS CON CLORURO DE LITIO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

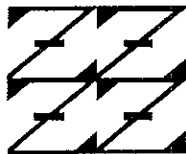
P R E S E N T A:

RAYMUNDO LOYOLA ALVAREZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. MARIO A. ALTAMIRANO LOZANO

**U N A M
F E S
Z A R A G O Z A**



**LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXION**

MÉXICO, D.F.

1998

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

263876.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A Omar y Mouse.
Quienes en todo esfuerzo son
mi motivo y la razón.

A Ma. De los Angeles G. V.
Por su incansable insistencia y apoyo para
iniciar y culminar este trabajo.

EL PRESENTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL LABORATORIO DE CITOGENETICA, MUTAGENESIS Y TOXICOLOGIA REPRODUCTIVA, DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. MARIO A. ALTAMIRANO LOZANO, EL APOYO DE LA M EN IBSH. ELIA ROLDAN REYES Y LA BIOL. LUCILA ALVAREZ BARRERA, A QUIENES EXPRESO MI MÁS SINCERO AGRADECIMIENTO.

ÍNDICE GENERAL

1.	Resumen	i
2.	Antecedentes	1
3.	Marco Teórico	1
3.1	Características de los metales	1
3.2	Generalidades del litio	3
3.3	Propiedades físicas y químicas	3
3.4	Origen y distribución	3
3.5	Usos	5
3.6	Historia de las sales de litio	6
3.7	Acción farmacológica	6
3.8	Farmacocinética	7
3.9	Farmacodinámica	8
3.10	Toxicidad	12
3.11	Cloruro de litio (LiCl). Propiedades	13
3.12	Obtención	13
3.13	Usos	13
3.14	Genética Toxicológica	14
3.15	Sistemas biológicos de prueba	14
3.16	Biomarcadores	15
3.17	Mutaciones	16
3.18	Efectos genotóxicos de los metales	22
3.19	Estudios Genotóxicos del litio	22
3.20	Mutagenicidad	22
4.	Justificación	26
5.	Hipótesis	27
6.	Objetivos	28
7.	Material y método	29
8.	Evaluación y diseño estadístico	30
9.	Resultados	31
9.1	Índice mitótico	31
9.2	Aberraciones cromosómicas	33
9.2.1	Estructurales	33
9.2.2	Numéricas	38
10.	Discusión	40
11.	Conclusiones	54
12.	Comentarios	55
13.	Bibliografía	56

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	TITULO	PAGINA
1	Propiedades Físicas y químicas del Litio y algunos de sus compuestos	4
2	Contenido de litio en algunos minerales.	5
3	Índice mitótico en células de médula ósea de ratones tratados con Cloruro de Litio.	32
4	Aberraciones cromosómicas estructurales en células de la médula ósea de ratones tratados con Cloruro de Litio.	35
5	Aberraciones numéricas (poliploidías) inducidas por LiCl en células de médula ósea de ratón a diferentes concentraciones	39

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	TITULO	PAGINA
1	Descripción de las aberraciones cromosómicas más comunes observadas en muestras testigo o de individuos expuestos a radiaciones o agentes químicos.	19
2	Índice mitótico en células de la médula ósea de ratones tratados con cloruro de litio.	41
3	Efecto hormótico mostrado por algunos metales en sistemas biológicos.	43
4	Cuatro tipos de relaciones dosis-respuesta encontradas en fármacos.	45
5	Relaciones de dosis respuesta de compuestos químicos.	46
6	Cromosomas de ratón en metafase	50

RESUMEN

El litio es ampliamente distribuido a través del mundo en una variedad de minerales, estos minerales y sus compuestos encontrados se usan en una gran variedad de industrias, incluyendo la metalurgia, cerámica, aire acondicionado, para lubricantes (grasas), en aplicaciones de sustentación bajo el agua y en la formulación de productos químicos y farmacéuticos. El uso de las sales de litio en medicina es extenso, se han empleado en el tratamiento de desordenes psiquiátricos bipolares (en pacientes maniaco-depresivos), también en el tratamiento de una variedad de condiciones y desordenes no psiquiátricos.

El mecanismo responsable de los efectos terapéuticos del litio no se identifica aún y en reportes acerca de la evaluación de su citotoxicidad son contradictorios.

En el presente trabajo se analizaron los efectos clastogénico y genotóxico causados por el cloruro de litio (LiCl) en células de médula ósea de ratón. Para esto se aplicaron intraperitonealmente cinco diferentes dosis (3, 6, 12, 24 y 48 $\mu\text{g/g}$ de peso de ratón), a ratones macho de la cepa CD-1 de aproximadamente 30-40 días de edad y un lote fue tratado con Mitomicina-C (MMC) como testigo positivo.

Los resultados demuestran que el LiCl aumenta significativamente el IM, sin embargo entre los lotes tratados se aprecia una tendencia a disminuir el valor del I. M. conforme aumenta la concentración. El I. M. para el tratamiento con MMC no presentó una diferencia significativa con respecto al testigo negativo.

En los resultados de la frecuencia de células con aberraciones cromosómicas estructurales solo se observó incremento significativo en la aparición de fragmentos sencillos conforme aumenta la concentración del cloruro de litio en los tratamientos.

En cuanto a la frecuencia de aberraciones cromosómicas numéricas (poliploidias) no se observaron diferencias significativas de los lotes tratados comparadas con el testigo negativo.

2. ANTECEDENTES

Los medicamentos, al igual que diversos factores ambientales físicos o químicos, son susceptibles de inducir alteraciones genéticas (mutaciones), cuyos efectos pueden hacerse manifiestos a corto plazo o tener una expresión diferida. Las consecuencias de dichas mutaciones dependen de que se produzcan en células germinales o somáticas. El daño en las células germinales pueden conducir a la acumulación de genes o cromosomas anormales y con ello al incremento de padecimientos hereditarios y problemas reproductivos como la infertilidad, ya sea a través de la disminución en la viabilidad de los gametos o de alterar la fecundación. Desafortunadamente estos fenómenos también pueden provocar la interrupción del desarrollo embrionario o fetal y ser la causa de abortos o de muertes perinatales (Cortinas, 1980).

3. MARCO TEÓRICO

3.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS METALES

Los metales ocupan un lugar muy importante dentro de los elementos considerados como muy peligrosos, ya que han sido ampliamente demostradas su toxicidad y efectos adversos sobre los organismos (Ortiz Monasterio, *et al*, 1987) dado que la mayoría de ellos muestran poca adaptabilidad a elevadas concentraciones de estos elementos (Deknudt y Deminatti, 1978; Deknudt y Gerber, 1979; Duffus, 1983).

De los 109 elementos químicos, aproximadamente 80 son clasificados como metales, con base en las propiedades físicas que presentan en estado sólido. Sus propiedades químicas dependen de su configuración electrónica, razón por la cual muchos son capaces de formar una gran variedad de compuestos con un amplio rango

de estados de oxidación, como los inorgánicos (algunas sales), los complejos metálicos o coordinados y los compuestos de tipo organometálico o combinados con otros metales. En todos los casos los átomos forman entre ellos enlaces covalentes, iónicos o combinaciones entre estos dos (Altamirano, 1993).

Muchos de los metales tienen funciones biológicas importantes, formando la mayoría de las veces complejos con otras moléculas, como es el caso de las metalporfinas (clorofila y hemo), las proteínas férricas no hémicas como las ferredoxinas, las moléculas biológicas que contienen cobalto o cobalaminas, como la vitamina B12 y a muchas enzimas activadas por estos elementos (p.e. Mg) o las llamadas metaloenzimas (Altamirano, 1993).

Las características físico-químicas de los metales presentes en los medios de exposición (aire, agua, alimentos o medicamentos) son fundamentales para poder conocer su potencial de absorción y de retención dentro del organismo (Stokinger, 1981).

Cuando se realiza la evaluación del efecto adverso de los metales sobre el organismo, lo primero que se debe tomar en cuenta es el mecanismo por el cual los metales y sus compuestos son incorporados al cuerpo y cual es su blanco de acción (Elinder et al. 1988).

El grupo de elementos químicos IA (metales alcalinos: litio (Li), Sodio (Na), Potasio (K), Rubidio (Rb), Cesio (Cs)), forman sales estables, solubles en agua, existen como iones en fluidos biológicos, rara vez forman enlace con macromoléculas, son rápidamente absorbidos por la sangre y son distribuidos ampliamente a través de las membranas biológicas, varios de estos metales han demostrado tener actividad clastogénica a elevadas concentraciones. Esta actividad está relacionada con la disminución de Na^+ y K^+ , y al efecto de altas concentraciones en la tensión osmótica (Sharma y Talukder, 1987). Uno de los metales que está ampliamente distribuido en la naturaleza y al cual el hombre le ha dado usos muy diversos es el litio.

3.2 GENERALIDADES DEL LITIO

3.3 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

El litio es el primer elemento del grupo I, el menos reactivo de los metales alcalinos y el elemento sólido más ligero, es un metal argentino muy blando con densidad de 0.534 g/cm^3 a 20°C ; peso atómico 6.941, p.f. 180.54°C ; p.eb. 1336°C , (Tabla 1), dureza Mohs: 0.6, la viscosidad del líquido es menor que la del agua. Reacciona isotérmicamente sin nitrógeno en aire húmedo a temperatura ambiente, tiene alta conductividad eléctrica, es combustible y soluble en amoníaco líquido. El litio natural es una mezcla de isótopos ^7Li (92%) y ^6Li (8%) (Leonard, 1995; Gessner, 1975).

3.4 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

El litio está ampliamente distribuido a través de todo el mundo formando parte de una variedad de minerales, principalmente como silicatos de aluminio (Tabla. 2), está presente en agua de mar a 11 ppm y se encuentra en altas concentraciones en algunos manantiales (Patty's, 1981). Sus compuestos existen en la naturaleza pero solo en pequeñas concentraciones, algunos valores promedio son 30mg/kg en la corteza terrestre, 25 mg/kg en el suelo, 2 ng/m^3 en la atmósfera (Sposito, 1986; Birch, 1988; Ribas, 1991). La concentración de litio en las plantas comestibles varía ampliamente de 0.01 ppm. en material seco de la banana, a 55 ppm. en avena (Shacklette et al. 1978).

Tabla 1. Propiedades Físicas y Químicas del Litio y algunos de sus compuestos

FORMA DE LITIO	PESO At. o Mol.	DENSIDAD (G/cm ³)	PUNTO DE FUSION (°C)	PUNTO DE EBULICION (°C)	SOLUBILIDAD
Litio (Li)	6.94	0.534 (20 °C)	180.5	1336 ± 5	LiOH + H ₂ , alcohol; sol. ácidos, NH ₃ liq.
Hidruro de Litio (LiH)	7.95	0.82	680	—	LiOH + H ₂
Hydruro aluminio de Litio (LiAlH ₄)	37.95	0.917	125	—	H ₂ O Fría; 30 g/100 ml éter
Hydroxido de litio Hidratado (LiOH · H ₂ O)	41.95	1.51	—	—	223 g/litro (10°C), 268 g/litro (8°C); sol. alcohol
Bromuro de litio (LiBr)	86.85	3.464 (25°C)	550	1265	1.45 Kg/litro (4°C), 2.54 Kg/litro (90°C), 730g, 40°C alcohol; sol. éter
Cloruro de litio (LiCl)	42.40	2.068 (25°C)	605	1353	454 g/litro (20°C), 1275 g/litro (100°C); sol. Alcohol, éter, acetona
Carbonato de litio (LiCO ₃)	73.89	2.111 (17.5°C)	723	1310 (760)	13.3 g/litro (0°C), 7.2 g/litro (100°C); sol. en ácidos, insol. en acetona, NH ₃ , alcohol
Oxido de litio (Li ₂ O)	29.88	2.013 (25.5%)	>1700	1200 (600)	66.7 g/litro (18°C); 100 g/litro (100°C)
Estearato de litio (LiC ₁₈ H ₃₅ O ₂)	290.41	—	220.5	—	0.1 g/litro (18°C); sol. Sol. Alcohol, éter, acetona.

Tomado de Clarkson, 1987.

Tabla 2. Contenido de Litio en algunos minerales

Mineral	Composición química aproximada	Contenido de litio (%)
Pentalita	$\text{LiAlSi}_4\text{O}_{10}$	2-4
Lepidolita	$\text{K}_2\text{Li}_3\text{Al}_4\text{Si}_7\text{O}_{21}$	3-4
Spodumen	$\text{LiAlSi}_2\text{O}_6$	4-7
Ambrigonita	LiAlFPO_4	8-9
Fosfato dilítico de sodio	Li_2NaPO_4	19-21

Tomada de Clarkson, 1987

3.5 USOS

El litio y sus compuestos tienen muchas aplicaciones industriales en baterías de litio, en detectores de litio-germanio para radionucleósidos, en aleaciones metálicas, en la síntesis de compuestos orgánicos (por ejemplo reactivo Grignard), como humectante en sistemas de aire acondicionado (LiBr), en la producción de vasos de vidrio, cerámica, conductores eléctricos porcelanizados (LiCO_3), para la inhibición de la corrosión por el agua de enfriamiento en reactores atómicos (CrLi_2O_3), como combustible termonuclear (el isótopo ^6Li), en futuros reactores de fusión, en la producción de productos químicos y farmacéuticos y para la fabricación de grasas (Birch, 1988; Patty's, 1981). Sin embargo las intoxicaciones por exposición laboral por todas estas aplicaciones industriales no han sido reportadas. La exposición más común al Li y también los resultados tóxicos son por el uso intensivo en medicina luego del descubrimiento de las propiedades psicotrópicas del Li (Code, 1949; Schu, 1968).

3.6 HISTORIA DE LAS SALES DE LITIO

Las sales de litio se introdujeron en terapéutica como disolvente del ácido úrico, pero eran muy poco eficaces in vivo. A finales del siglo XIX, cuando eran muy utilizados los bromuros, se pensó que el bajo peso atómico del litio deparaba la oportunidad de administrar mayor cantidad de bromuro con el mismo peso del fármaco administrado. Hacia 1940 el cloruro de litio (LiCl) se introdujo como sustituto del cloruro sódico (NaCl) en el uso culinario para pacientes con regímenes hiposódicos, pero tuvo que ser retirado en 1949 por su gran toxicidad incrementada por la disminución de sodio. En 1949, el psiquiatra austríaco John F. Cade lo introduce en psicofarmacología para el tratamiento de la fase maníaca de la psicofrenia. La farmacología de las sales de litio es estudiada por Schou en 1952-54 en Dinamarca y a partir de 1968 se introduce de lleno en terapéutica (Lorenzo, 1987) sus usos en psiquiatría y medicina han sido actualizados (Johnson, 1980; Herrington y Lader, 1981; Jefferson y Col., 1985).

3.7 ACCION FARMACOLÓGICA

Todas las sales de litio tienen la misma acción farmacológica, el litio corrige la hiperactividad adrenérgica de la noradrenalina que existe en la manía a nivel de los centros nerviosos, suprimiendo así los trastornos maníacos de excitación, se ha comprobado que en pacientes maniacodepresivos las fases depresivas disminuyen igual que las maníacas, en número e intensidad, además reduce considerablemente los síntomas de inquietud y excitación en los esquizofrénicos (Lorenzo, 1987). Su principal acción es prevenir los cambios de humor en enfermos con trastorno afectivo bipolar maníaco - depresivo (Cedric y Alan, 1993). El litio también se emplea en la profilaxis de la depresión, discinesia tardía, estados agresivos, intoxicación por

anfetaminas (por su efecto antianfetamínico), y algunas formas distímicas de esquizofrenia (Lorenzo, 1987)

3.8 FARMACOCINÉTICA

Las sales de litio se absorben bien cuando se administran por vía bucal y parenteral, y una vez absorbidas pasa a la sangre. El Li no se combina con las proteínas plasmáticas y pasa a los tejidos fácilmente, siendo el volumen de distribución 0.7 l/kg, de manera que se distribuye por el líquido extra e intracelular y pasa a todos los tejidos, especialmente el hígado, riñón, bazo, cerebro, huesos y tiroides, sin embargo no atraviesa con facilidad la barrera hematoencefálica, de manera que la concentración en el líquido cefalorraquídeo y el cerebro es de 40 a 50 por ciento de la plasmática. (Goodman y Gilman, 1991). En cambio atraviesa fácilmente la placenta y durante el nacimiento del niño, el nivel plasmático de Li^+ umbilical es igual al maternal. El Litio es transferido al lactante por medio de la leche materna, la cual tiene una concentración de aproximadamente un tercio a un medio de la sérica (Cedric y Alan, 1993).

El Li es tratado por el organismo en la misma forma que el sodio y existe una interrelación entre la excreción renal de ambos cationes (Schu, 1975), de manera que un exceso de ingestión de sodio se acompaña de una eliminación mayor de litio (y de sodio) (Laurence, 1980) y un aporte menor de sodio trae aparejada una disminución de la excreción de litio, pudiendo producirse así una grave intoxicación. Con una ingestión normal de sodio, la vida media del Li^+ es de alrededor de 24 hs y esta larga vida media por excreción lenta puede dar lugar a fenómenos de acumulación por dosis repetidas, las mismas llevan a un estado estable después de 5 a 6 días (Hollisrer, 1978; Levy, 1968).

El Li se elimina también por la leche, pero la concentración en la misma es de alrededor de la mitad a un tercio con respecto al nivel sanguíneo, por lo que no

conviene que la madre que toma litio amamante a su hijo (Laurence, 1980). El litio sustituye parcialmente al sodio y tiene algunos efectos similares al potasio, por lo que altera el estado bioeléctrico de las membranas. Puede tener acciones enzimáticas directas, altera o modifica el metabolismo de los hidratos de carbono e interfiere con algunas hormonas como las corticosteroides, tiroideas y antidiurética (Lorenzo, 1987).

El Li se excreta principalmente por el riñón - algo también por las heces, sudor y saliva -, el metal se excreta por filtración glomerular y reabsorción tubular, el 80 % del Li filtrado es reabsorbido, eliminándose el 20 %, por lo que la excreción es lenta, 10 a 15 días. (Hollister, 1978; Schou, 1975; Bertram, 1993).

Estudios recientes indican que los niveles terapéuticos de litio (0.6-1.2 mEq/l) pueden reducir la sensibilidad de las neuronas y otras células a varios neurotransmisores mediante la disminución del contenido de fosfatidilinosítidos de la membrana plasmática. Sin embargo los efectos terapéuticos y tóxicos del litio siguen sin aclararse (Bertram, 1993)

3.9 FARMACODINÁMICA

A pesar de investigaciones considerables, el modo de acción del Li no se identifica aún. Las teorías más probables que se están investigando incluyen:

A. Acciones sobre electrolitos y transporte iónico: El átomo de litio es análogo al del sodio. Puede sustituirlo para generar potenciales de acción en el intercambio de Na^+ y K^+ a través de la membrana. Inhibe el último proceso, es decir, el intercambio de Li^+ por Na^+ disminuye gradualmente después de que el litio entra al cuerpo. En concentraciones terapéuticas (alrededor de 1 mmol) no afecta de manera significativa el proceso de intercambio del Na^+ y Ca^{++} ni la bomba de sodio catalizada por Na^+ , K^+ -ATPasa. Una característica del Li es que a diferencia de los iones Na^+ y

K^+ , posee un gradiente muy pequeño de distribución a través de las membranas biológicas; aunque puede desplazar al Na^+ para generar un potencial de acción único en la célula nerviosa, no es un "sustrato" adecuado para la bomba de Na^+ , y por lo tanto no puede mantener los potenciales de membrana. No existe seguridad de que se produzcan interacciones importantes entre el Li^+ (en concentraciones terapéuticas de alrededor de 1 mEq por litro) y el transporte de otros cationes monovalentes o bivalentes por las células nerviosas (Cedric, 1993).

B. Acciones sobre neurotransmisores En relación con los neurotransmisores aumenta la deaminación intraneuronal de catecolaminas, bien por inhibir su liberación o incrementar su incorporación; también aumenta la captación de triptofano e incrementa la producción de catecolaminas y serotonina. Las sales de litio inhiben la actividad adenilciclase ligada a catecolaminas, hormona antidiurética e histamina. Se ha demostrado que el Li interfiere con el ciclo y recambio de los fosfoinosítidos en el sistema nervioso; inhibe la hidrólisis del mioinositol -1-fosfato y, por tanto disminuye la capacidad de resíntesis de fosfatidilinosítidos. Dada la importancia que tiene este sistema como segundo mensajero en respuesta a la activación de varios receptores (colinérgicos, alfa-1 adrenérgicos, peptidérgicos) se comprende la acción antimaniaca de las sales de litio (Drummond, 1987).

Al parecer el litio incrementa algunas acciones de la serotonina, aunque los informes han sido contradictorios. Sus acciones en la noradrenalina son variables. El agente puede disminuir el recambio de noradrenalina y dopamina, y estas acciones, si se confirman, podrían ser importantes para su efecto antimaniaco. También es probable que el litio bloquee el desarrollo de supersensibilidad de los receptores de dopamina, que en ocasiones acompaña a la terapéutica crónica con antipsicóticos. Por último el litio puede aumentar la síntesis de acetilcolina, quizá por incremento de la recaptación de colina en las terminaciones nerviosas. Algunos estudios clínicos han indicado que un incremento en la actividad colinérgica puede mitigar la manía. Sin

embargo, una acción de segundo mensajero del litio puede contrarrestar cualquier acción de aumento de la liberación de acetilcolina (Cedric y Alan, 1993).

C: Acciones sobre segundos mensajeros: En los últimos años se ha acumulado evidencia que señala que un segundo mensajero para el inositol trifosfato y los diacilgliceridos cumple un papel importante. Estos compuestos son liberados por hidrólisis de los fosfatidilinosítidos de la membrana, como resultado de la activación de receptores para muchas neurohormonas. El ion Li^+ (en una concentración de 1 mM) inhibe la hidrólisis del inositol-1- fosfato en el encéfalo y en otros tejidos. Como resultado el Li^+ puede disminuir el contenido de fosfatidilinosítidos de las células que están estimuladas intensamente y aisladas de las fuentes exógenas de inositol (p. ej. las neuronas del SNC). El agotamiento de los fosfatidilinosítidos puede reducir la respuesta de las neuronas a los estímulos muscarínicos, colinérgicos, adrenérgicos o a otros estímulos. En forma hipotética el tratamiento con Li^+ podría modular en forma selectiva la función de las neuronas hiperactivas que contribuyen al estado maniaco (Berridge y col, 1982; Berridge, 1984; Casebolt y Jope, 1989).

La actividad mejor definida del litio es su acción sobre los fosfatos de inositol. Estudios del litio mostraron cambios en la concentración de fosfato de inositol en el encéfalo, pero su significado no se apreció hasta que se descubrieron las funciones de segundos mensajeros de F_3I y DAG (Berridge, 1982). El 1,4,5-trifosfato de inositol (F_3I) y el diacilglicerol (DAG) son segundos mensajeros importantes para la transmisión tanto β -adrenérgica como muscarínica. El litio inhibe la conversión de F_2I a F_3I , paso esencial en el reciclamiento normal de los fosfoinosítidos de membrana. Este bloqueo conduce a agotamiento de 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol (F_2FI), el precursor membranal de F_3I y DAG. Al paso del tiempo, los efectos de los transmisores en la célula disminuirán en proporción a la cantidad de actividad en las vías dependientes de F_2FI . Esta actividad podría estar notablemente aumentada en la manía, conduciendo a depresión selectiva de los circuitos hiperactivos. Estudios recientes sugieren que la activación de los receptores muscarínicos, puede impedir la

acción inhibitoria normal de la actividad sobre ciertas neuronas del hipocampo. Esta acción colinérgica excitadora puede evitarse con concentraciones terapéuticas del litio.

Los estudios de los efectos noradrenérgicos en tejido cerebral aislado, indican que el litio puede inhibir a la adenilato ciclasa sensible a la noradrenalina. Este efecto podría explicar sus efectos antidepresores y antimaniacos. Actualmente se desconoce la relación de estos efectos con las acciones del litio sobre los mecanismos del F₃I.

D. Sistema nervioso central. Además de las especulaciones sobre la distribución alterada de los iones en el SNC, gran parte de la atención se ha centrado sobre los efectos que tienen las concentraciones bajas de Li⁺ sobre el metabolismo de las monoaminas biogénicas, que han sido implicadas en la fisiopatología de las alteraciones del estado de ánimo.

En tejido encefálico animal, el Li⁺ en concentraciones de 1 a 10 mEq por litro inhibe la despolarización provocada y la liberación de noradrenalina y dopamina Ca⁺⁺ - dependiente de las terminales nerviosas, pero no la de 5-HT (Baldessarini y Vogt, 1988) El Li⁺ puede llegar a aumentar la liberación de la 5-HT, en especial en el hipotálamo, también puede alterar ligeramente la recaptación y el almacenamiento presináptico de las catecolaminas en un sentido compatible con la inactivación incrementada de las aminas. El ión tiene poco efecto sobre la adenilciclasa sensible a las catecolaminas o sobre la unión de ligandos a los presuntos receptores adrenérgicos en el tejido encefálico, aunque existe una evidencia contradictoria sobre la capacidad del Li⁺ para inhibir los efectos de los agentes bloqueadores de receptores que provocan la hipersensibilidad en estos sistemas. Se ha encontrado que el Li⁺ modifica en otros tejidos las respuestas hormonales mediadas por la adenilciclasa. Se ha sugerido que los efectos del Li⁺ sobre la distribución del Na⁺, Ca⁺⁺, y Mg⁺⁺ y sobre el metabolismo de la glucosa contribuyen a los efectos antimaniacos o estabilizantes del estado de ánimo del ion. Pero ninguna de estas hipótesis ha sido confirmada.(Goodman y Gilman, 1991)

3.10 TOXICIDAD

El litio no constituye una medicación inocua, es capaz de producir reacciones adversas importantes (Gershon, 1970; Hollister, 1978; Laurence, 1980; Schou, 1980) y el margen de seguridad es pequeño, se estima que un nivel conveniente de Li^+ en el plasma o suero sanguíneo o nivel terapéutico es de 0.8 a 1.4 meq/l o sea 5 a 10 mg/dl, mientras un nivel tóxico leve es de 1.6 a 2.0 meq/l o sea 11 a 15 mg/dl y un nivel tóxico grave es de 2.5 a 3.0 meq/l o sea 17 a 20 mg/dl. La aparición de toxicidad está relacionada con la concentración plasmática del Li^+ y con su tasa de aumento luego de su administración, las reacciones adversas se refieren al sistema nervioso. Tracto digestivo, sistema cardiovascular, endocrino y renal (Bowman, 1980; Gershon, 1970; Laurence, 1980; Schou, 1975; Schou, 1980), además puede existir acción teratogénica (Schou, 1980) y la intoxicación del recién nacido de una madre que recibe litio (Tunnessen, 1972).

Las manifestaciones nerviosas consisten principalmente en temblor -no parkinsoniano- en las manos (Schou, 1980) y que se extiende también al cuerpo; además sacudidas musculares, zumbidos, somnolencia, ataxia, nistagmo, disartria, hiperreflexia, rara vez convulsiones epileptiformes, y con grandes dosis -intoxicación aguda- coma y muerte por detención respiratoria (Crossland, 1980),

Los trastornos digestivos son la anorexia, molestias epigástricas, vómitos, cólicos y diarrea.

Los trastornos cardiovasculares, observados con dosis elevadas, consisten en hipotensión arterial, taquicardia, pudiendo llegar raras veces al cuadro de shock (Levi, 1968).

Las manifestaciones endocrinas son la hipertrofia tiroidea en tratamientos prolongados, generalmente sin alteración de la función tiroidea, aunque a veces puede disminuir hasta llegar a mixedema (Schou, 1980).

Los **trastornos renales** consisten en poliuria, hasta 6 a 8 litros diarios, (Schou, 1980) con densidad baja de orina (semejante a la diabetes insípida), y que se acompaña de polidipsia.

En el **recién nacido** de madre que ingiere litio, por pasaje por la placenta y luego por la leche materna, puede presentarse un cuadro de flacidez muscular, cianosis y un soplo funcional cardíaco que luego desaparece. Se ha descrito también la aparición de bocio fetal (Schou, 1980; Tunnessen, 1972).

3.11 CLORURO DE LITIO (LiCl). PROPIEDADES

El cloruro de litio son cristales blancos delicuescentes, su p.e. es 2.068; con p.f. de 614⁰ C, y p.eb. de 1360⁰ C, muy soluble en agua, alcohol, piridina, nitrobenzono y éter, es una de las sales más higroscópicas que se conoce, poco tóxico, pero no debe utilizarse como sustituto de la sal de dieta.

3.12 OBTENCION

El Cloruro de Litio se obtiene mediante la **reacción de minerales de litio con cloruros**, además, a partir de salinas naturales.

3.13 USOS

El Cloruro de litio es ampliamente utilizado en la industria para acondicionamiento de aire, como **fúndente en soldadura**, para la elaboración de pilas secas, medios de intercambio de calor, baños salinos, desecante, humectante, producto químico de uso general, fabricación de litio metal, bebidas refrescantes y aguas minerales, para reducir el escape de CO₂

3.14 GENETICA TOXICOLOGICA

El daño producido por diversos factores al material genético, a través de la mutagénesis es uno de los riesgos toxicológicos que no se ha valorado suficientemente, a pesar de su repercusión en la salud de los individuos afectados y sus descendientes (Trosko. 1978; Kaltre 1971).

La existencia de más de 80,000 sustancias producidas por la industria y difundidas en el ambiente (Ramel. 1978) hace necesario identificar aquellas capaces de inducir mutaciones, con el objeto de prevenir sus efectos sobre la población humana.

Desde hace algunos años se desarrollo un área de trabajo que se denomino *Genética Toxicológica*, la cual se dedica al estudio sistemático de los efectos de los agentes físicos, químicos y biológicos presentes en el ambiente, sobre los sistemas genéticos de los organismos, así como de las consecuencias de tipo genético para el futuro de las especies (Prival, 1980; Moutschen, 1985).

3.15 SISTEMAS BIOLOGICOS DE PRUEBA

La producción masiva de diversas sustancias, propicia que las poblaciones humanas se encuentren cada vez más expuestas a ellas. Con el propósito de prevenir las consecuencias de la exposición del hombre a los fármacos, es necesario identificar los agentes químicos potencialmente mutágenos y como se manifiestan las alteraciones genéticas más relevantes, lo que hace necesario el empleo de *Sistemas Biológicos de Prueba*, entre los cuales se encuentran algunas plantas, microorganismos, insectos, cultivos celulares, animales superiores, así como seres humanos expuestos en circunstancias médicas, laborales o ambientales y, excepcionalmente en condiciones experimentales (Brushick, 1981; Moutschen, 1985).

El objetivo de las pruebas de toxicidad genética es identificar y describir los efectos de los agentes los cuales producen específicamente alteraciones genéticas a dosis subtóxicas. (Andress, 1992).

Los roedores han sido preferidos a otras especies debido a su susceptibilidad a la inducción de tumores, su lapso de vida relativamente breve, el bajo costo de su mantenimiento, su uso común en estudios farmacológicos y toxicológicos, la disponibilidad de cepas endógamas y, como consecuencia de estas características, el gran caudal de información disponible respecto a su fisiología y patología (OPS/OMS, 1980).

Entre las diferentes especies animales los ratones son los más ampliamente usados en una variedad de diseños para estudio de toxicidad genética, ya que es un mamífero pequeño, de fácil manejo, gregario sano, prolifero, dócil, fácilmente domesticable, se desarrolla bien en cautiverio, con requerimiento mínimo de espacio y alojamiento, de dieta omnívora, y genéticamente caracterizado. Por otra parte, representa un modelo ideal para el estudio de la genética humana, ya que por ser un mamífero tiene similitud funcional con el hombre (OPS/OMS, 1980 ; Sernler et al., 1992).

En el ratón como sistema biológico de prueba se pueden hacer ensayos *in vivo* (médula ósea), en los cuales se pueden evaluar el daño mutagénico como el número y tipo de aberraciones cromosómicas, así como la frecuencia de ICH. Además este sistema permite realizar evaluaciones de los efectos teratogénicos de las sustancias estudiadas (Allen y Latt., 1976; Schneider y col., 1977; Latt y col., 1981).

3.16 BIOMARCADORES

La exposición a sustancias xenobioticas es causa de preocupación sobretudo por el desconocimiento de sus efectos a largo plazo como son las alteraciones génicas y reproductivas, el cáncer y algunas enfermedades de origen inmunológico. En el

monitoreo biológico de individuos expuestos a factores tóxicos se ha propuesto el uso de biomarcadores, que son indicadores de eventos ocurridos en el organismo o en las células y pueden ser de:

Exposición: Miden la concentración del xenobiótico o sus metabolitos en los líquidos biológicos.

Susceptibilidad: Implican una interacción especial del xenobiótico con las características genéticas del individuo.

Efecto: Son cambios fisiológicos bioquímicos o genéticos que ocurren en las células o los tejidos (podrían servir como indicadores de un daño al organismo en sus fases iniciales y que pudieran llegar a ser irreversibles, permitiendo así prevenir enfermedades que a su vez diagnosticadas son difíciles o intratables). Se proponen como indicadores tempranos de enfermedad. Como marcadores de efecto genotóxico se han propuesto las aberraciones cromosómicas, el intercambio de cromátidas hermanas, los micronúcleos, y las mutaciones génicas.

El índice mitótico (IM) y la cinética de proliferación celular (CPC) son parámetros que han sido utilizados ampliamente para evaluar la proliferación de linfocitos en niños, adultos y viejos, así como el de células normales y tumorales. Los toxicogenétistas los utilizan para evitar la evaluación del daño al ADN a concentraciones citotóxicas ya que las alteraciones en la proliferación pueden alterar la genotoxicidad.

El IM y la CPC pueden ser utilizados como biomarcadores tempranos en la exposición a xenobióticos (Ostrosky, 1993).

3.17 MUTACIONES

Una mutación es un cambio hereditario en el material genético, incluida una transformación química del gene individual (mutación puntual) o un cambio que

involucra la reestructuración de las partes de un cromosoma (mutación cromosómica), (OPS/OMS 1980).

Una mutación se produce cuando se altera la secuencia o el número de nucleótidos de un ácido nucleico y la nueva secuencia o el nuevo número pasa del progenitor a la progenie. Las mutaciones se clasifican en **puntuales**, que afectan a una región corta de un cromosoma (p. Ejem. la **sustitución** de una base por otra, la **delección** o la **adición** de una o varias bases) y en **aberraciones cromosómicas**, que afectan a trozos más grandes del cromosoma o al número total de cromosomas de la especie. Se producen espontáneamente y pueden ser inducidas mediante un agente que afecte la integridad física de los cromosomas, a la mecánica de los movimientos cromosómicos en la meiosis, o a ambas. Por consiguiente cualquier agente que sea tóxico para las células, es, al menos potencialmente mutágeno, (Goodenough, 1981). Las mutaciones cromosómicas se han clasificado tradicionalmente de la siguiente manera:

1. - **Mutaciones o Aberraciones Estructurales**. Los individuos portadores de aberraciones cromosómicas puede ser homocigóticos o heterocigóticos. Un heterocigótico estructural es un individuo o una célula que posee un cromosoma mutado y su homólogo normal. Un homocigótico estructural es aquel en el que todas las parejas de cromosomas son estructuralmente homologas, aunque una o varias presentan una mutación cromosómica en homocigosis, se habla de un homocigótico estándar, para referirse a un individuo con el cariotipo normal.

Delección: Es la pérdida de un segmento cromosómico, que puede ser intersticial o terminal.

Duplicación: surge cuando un segmento cromosómico se duplica dos o más veces en lugar de una sola, o cuando se produce un sobrecruzamiento en zonas que no están perfectamente apareadas.

Inversiones: Ocurre que un segmento cromosómico gira 180° respecto al resto del cromosoma. En la inversión pericéntrica el centrómero está contenido en la zona invertida y en la inversión paracéntrica el centrómero queda fuera de la inversión.

Translocaciones: son intercambios de segmentos entre cromosomas no homólogos, la translocación puede ser homocigótica o heterocigótica.

2. - Mutaciones que afectan al Número Cromosómico.

Poliploidía: Se produce cuando se multiplica el número de cromosomas. Entre las poliploidías, las Autopoliploides o autopoloides; son aquellas cuyos juegos cromosómicos son todos homólogos entre sí. Los Alopoliploides o alopoloides, reúnen de forma natural o experimental, los juegos cromosómicos de dos o más especies. En la meiosis se comportan de acuerdo a las relaciones de homología de los genomas que los constituyen.

Haploidía: A veces un gameto o una célula haploide de un gametofito se desarrolla por partenogénesis o androgénesis, dando individuos haploides.

Aneuploidía: Diversos accidentes durante la meiosis pueden producir pérdida o ganancia de cromosomas (es una desviación múltiple a partir de un estado diploide, el cual puede ocurrir a través de la presencia de un cromosoma o un segmento extra o de su ausencia: Hiperploidía o Hipoploidía).

3. - Mutaciones que afectan simultáneamente, al Número y a la Estructura de los cromosomas.

Fusiones: (translocaciones Robertsonianas) y **Fisiones** (isocromosomas) por el centrómero.

En algunas especies el centrómero es un lugar especialmente lábil, donde no es raro que se den roturas (fisiones) de cromosomas metacéntricos produciendo telocéntricos y viceversa, así mismo se pueden producir fusiones de cromosomas telocéntricos dando metacéntricos. Esto hace que se cambie a la vez el número y la estructura de los cromosomas (Hook, 1985; Puertas, 1992), (Figura 1).

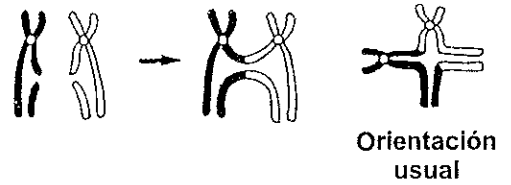
FIGURA 1.- DESCRIPCIÓN DE LAS ABERRACIONES CROMOSOMICAS MÁS COMUNES OBSERVADAS EN MUESTRAS TESTIGO O DE INDIVIDUOS EXPUESTOS A RADIACIONES O AGENTES QUÍMICOS

ABERRACIONES CROMOSOMICAS	1) DELESION TERMINAL (a y b) E INTERSTICIAL (c)	<p>(a) (b) (c)</p>
	2) CROMOSOMAS DICENTRICOS Y FRAGMENTOS ACENTRICOS	<p>→ → →</p>
	3) CROMOSOMA TRICENTRICO Y FRAGMENTOS ACENTRICOS	<p>== ==</p>
	4) INTERCAMBIO ASIMETRICO (ANILLO CON CENTROMERO)	<p>DNA replication</p>
	5) INTERCAMBIO SIMETRICO (TRANSLOCACIONES RECIPROCAS)	<p>DNA replication</p>

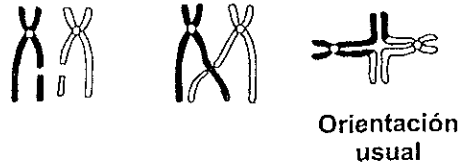
ABERRACIONES CROMOSOMICAS	<p>6) INTERCAMBIO SIMETRICO (INVERSION PERICENTRICA)</p>	
	<p>7) INTERCAMBIO SIMETRICO (INVERSION PARACENTRICA)</p>	
ABERRACIONES CROMATIDICAS	<p>1) DELESIONES TERMINALES</p>	
	<p>2) DELESIONES INTERSTICIALES</p>	
	<p>3) LESIONES ACROMATICAS (GAPS)</p>	
	<p>4) DELESIONES ISOCROMATIDICAS</p>	

Figura 17. Continuación

5) Intercambios asimétricos (intercambio
trabrazos, cambios cromatídicos asimétricos).
Los intercambios asimétricos son los tipo
cromatídico equivalentes a dicéntricos tipo
cromosómico



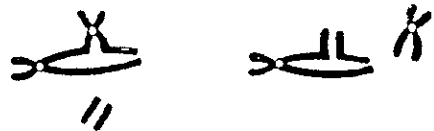
6) Intercambios simétricos
(cambios cromatídicos simétricos)



7) Intercambios cromatídicos simétricos
y asimétricos
(Intercambios intrabrazos)



8) Figuras trirradiadas



Tomado de :WHO, 1985.

3.18 EFECTOS GENOTOXICOS DE LOS METALES

Se sabe que los metales son capaces de afectar la división celular y producir alteraciones en las fibras del huso, lo que conduce a la formación de diplocromosomas, poliploidías y a una disminución del I.M. (Sharma y Talukder, 1987) Algunas de estas respuestas son atribuidas a la gran afinidad de los metales por los enlaces sulfuro y por consecuencia, a las proteínas del huso. Aunque algunos iones metálicos han mostrado ser no mutagénicos en bacterias, diferentes tipos de daño se han observado en células de mamífero, los cuales pueden ser considerados por su potencial carcinogénico. Predominan dos modelos de acción, la inducción de oxidación dañina del ADN y la intervención con los procesos de reparación del ADN. Hay creciente evidencia de que la inhibición de los procesos de reparación del ADN provee un importante mecanismo en la genotoxicidad de compuestos metálicos carcinógenos, considerando la vía de reparación por escisión de nucleótidos en células eucarióticas (Hartwin, 1995).

3.19 ESTUDIOS GENOTOXICOS DEL LITIO

3.20 MUTAGENICIDAD

A pesar del extenso uso terapéutico del litio, pocas son las investigaciones sobre el potencial mutagénico de sus compuestos. El litio tiene diversas rutas de acción con el ADN: el Li^+ se une selectivamente al ADN (Kuznetzov, 1971); compete con el Mg^{2+} y puede por eso dañar la síntesis del ADN (Becker y Tyobeka, 1990) y la reparación del ADN. Sin embargo los resultados en bacterias y en sistemas aislados están inconclusos. No se observaron efectos con cloruro de litio en el ensayo *rec*

usando H17 (*rec+*, *arg-*, *try-*) y M45 (*rec-*, *arg-*, *try-*) en líneas de *Bacillus subtilis* (Nishioka, 1975; Kanematsu et al., 1980 y King et al., 1979) con citrato de litio ($C_6H_5Li_3O_7$) con la prueba de Ames en *Salmonella typhimurium* (34 μ mol por placa de prueba), en la prueba de *Escherichia coli* (10 μ mol por placa), en el ensayo mediado por organizador con *E. coli* y en ratón (4 mmol/kg i.p.) y en unión sexual, la prueba de letal recesivo en *D. melanogaster* (manteniendo tres días con 20mM). Altas concentraciones de $LiCO_3$ (3mg/ml) inhiben significativamente la síntesis de ADN en células V79 de hámster chino y en fibroblastos EUE humanos, estos efectos fueron disminuidos por la adición de fracción S9 (Slameňová et al., 1986). Los mismos autores también observaron ruptura solo de una hebra in ADN y un pequeño incremento de mutación en el gene (HGPRT) en células V79 de hámster Chino en ausencia de la fracción S9, la adición de 0.05% de carbonato de litio al agua de beber a ratones de 6 meses de edad, durante 3, 6 o 12 meses, reduce significativamente la síntesis de ADN no programado inducido en linfocitos por el agente alquilante MNNG (100 μ mol/l) (Sram, 1990). Mutantes clorofílicos fueron producidos en la progiene de plantas *Pisum abyssinicum* adicionando nitrato de litio u otros nitratos Cu, Zn, Mn, Fe, Co, Ni, Al (Von Rosen, 1957). Carbonato de litio agregado a partir de 72-h de periodo de cultivo a concentraciones equivalentes de 0.1, 1 o 10 g de carbonato de litio distribuido en el cuerpo de una persona de 70 kg, no incrementa las aberraciones cromosómicas estructurales en linfocitos periféricos (Timson y Price, 1971). Confirmaron estos resultados en animales experimentales conociendo las dosis tóxicas de litio (Bille et al, 1975) fracaso la observación de cambios citogenéticos en linfocitos de sangre periférica de pacientes tratados con sales de litio.

No se observaron aberraciones en 19 pacientes maniaco-depresivos tratados con litio, comparados con 23 controles, pero el índice mitótico (IM) fue significativamente reducido (Genest y Villeneuve, 1971). Similares resultados negativos fueron reportados por Garson et al. , (1981) y Banduhn et al. (1980) en linfocitos periféricos de cerca de 77 pacientes estudiados, 50 de los cuales fueron

tratados con sulfato de litio, 17 con carbonato de litio y 10 con acetato de litio. También 16 pacientes maniaco-depresivos que recibieron carbonato de litio durante dos semanas o durante más de dos años (seis de ellos por más de un año) no mostraron aberraciones en sus linfocitos (Jarvik et al., 1971). La adición de 1.2, 1.8 o 2.4 mEqL de litio a cultivos de linfocitos sanguíneos no aumento las aberraciones estructurales (Friedrich y Nielsen, 1969), pero sorprendentemente estos autores encontraron un aumento significativo en la ruptura en linfocitos obtenidos de tres pacientes tratados con litio. Los últimos resultados quedaron inciertos debido particularmente el número pequeño de pacientes tratados y a la falta de detalles en el método o número de células analizadas. El incremento en la asociación de satélites reportada por de la Torre y Krompotic (1975) sin embargo no puede ser considerada como prueba de una acción mutagénica de litio in vivo dado que no se observo un incremento significativo en aberraciones cromosómicas en pacientes comparadas con controles. Finalmente Aoki y Ruedy (1971) no observaron incremento en aberraciones en una madre tratada con carbonato de litio, pero encontraron un incremento en su hija de 34 días de edad quien debió estar expuesta en útero, pero la segunda afirmación esta basada el análisis de solo pocas metafases.

4. JUSTIFICACION

La producción masiva de diversas sustancias, propicia que las poblaciones humanas se encuentren cada vez más expuestas a ellas. Actualmente la difusión masiva de múltiples contaminantes (plaguicidas, herbicidas, desechos industriales, etc.) y el incremento en el consumo de otros productos (aditivos de alimentos, drogas terapéuticas, cosméticos, etc.) puede contribuir un riesgo para la población en general por la exposición aguda o crónica, aun cuando no se alcancen niveles muy altos de esas sustancias. Por lo que es necesario estimar el riesgo que presenta la exposición a cada compuesto por medio de determinaciones cualitativas (relación causa-efecto) y cuantitativas (relación dosis-magnitud de la respuesta) (Cortinas, 1980).

El daño producido por diversos factores al material genético, a través de la mutagenesis es uno de los riesgos toxicólogos que no se han valorado suficientemente, a pesar de su repercusión en la salud de los individuos expuestos y sus descendientes (Trosko, 1980).

Los múltiples usos industriales y terapéuticos del cloruro de litio así como de sus compuestos, y los antecedentes sobre sus efectos genotóxicos que a la fecha han sido contradictorios en diferentes sistemas biológicos de prueba empleados, requieren de más evaluaciones de su acción sobre los cromosomas. por lo que en este trabajo se evaluara el efecto genotóxico del cloruro de litio sobre células de médula ósea de ratón.

5. HIPÓTESIS

Los minerales de litio así como de sus compuestos tienen múltiples usos industriales y terapéuticos. Los antecedentes bibliográficos sobre su toxicidad refieren que el litio es capaz de producir reacciones adversas sobre el sistema nervioso, tracto digestivo, sistema cardiovascular, endocrino y renal, además de que existen referencias que muestran que el uso terapéutico de este metal puede tener efectos adversos en el material genético de las células, induciendo cambios en los microtúbulos y en la organización y estructura de los cromosomas. Por otro lado se sabe que el litio puede tener una acción teratogénica y cancerígena.

Por todos estos antecedentes, al tratar ratones macho de la cepa CD-1 con Cloruro de litio por vía intraperitoneal en diferente dosis (3, 6, 12, 24 y 48 $\mu\text{g/g}$ de peso del animal), este compuesto será capaz de alterar el Índice Mitótico y de producir Aberraciones Cromosómicas en células de su médula ósea.

6. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el posible efecto mutagénico del Cloruro de Litio (LiCl) sobre los cromosomas de células de médula ósea de ratón.

OBJETIVOS PARTICULARES

Analizar el efecto del Cloruro de Litio sobre el índice mitótico (IM) de células de médula ósea de ratón.

Evaluar el efecto del Cloruro de Litio sobre la inducción de Aberraciones cromosómicas en células de médula ósea de ratón

Quantificar el número y tipo de Aberraciones Cromosómicas inducidas por el Cloruro de Litio en células de médula ósea

Establecer la posible relación Dosis-Efecto del Cloruro de Litio sobre las células de médula ósea de ratón.

7. MATERIAL Y MÉTODO

Animales.

Los animales que se utilizaron fueron ratones machos de la línea CD-1, de 30 a 40 gr de peso y de 3 a 4 meses de edad, reproducidos en el bioterio de la FES-Z, alimentados con comprimidos de purina y agua *ad libitum* y que se encuentran bajo condiciones controladas de luz, temperatura y circulación de aire. Tomándose un mínimo de cuatro organismos por lote para el análisis de cada una de las concentraciones (3, 6, 12, 24 y 48 $\mu\text{g/g}$ de peso de ratón), las cuales se determinaron en experimentos preliminares de toxicidad tomando como parámetro la LD_{50} (dosis letal media).

Cosecha y preparación de los cromosomas.

Los ratones se inyectaron por vía intraperitoneal con las correspondientes concentraciones, a los organismos del lote testigo se les inyectó un volumen equivalente de agua destilada, mientras que a otro lote se le aplicó una inyección de solución de mitomicina-C (4 $\mu\text{g/g}$). La cosecha se llevo a cabo 24 horas después, dos horas antes del sacrificio se les inyectó subcutáneamente 10 $\mu\text{g/g}$ de colchicina (Sigma). El sacrificio se hizo por dislocación cervical, se disectaron ambos fémures y se cortaron las epifisis, por uno de los extremos se inyectó 5 ml de solución hipotónica de KCl (0.057M) a 37°C. para obtener las células de la médula ósea. La suspensión celular se recuperó en tubos de centrifuga donde se homogeneizaron en un agitador

de tubos tipo vortex y se incubaron por 20 min a 37⁰ C. Se centrifugaron nuevamente obteniendo el botón celular al que se le hicieron tres cambios de fijador de Carnoy's (metanol-ac. acetico 3:1).

La preparación de las laminillas se hizo mediante goteo de la suspensión celular sobre portaobjetos fríos.

8. Análisis.

Las preparaciones se revisaron a doble ciego en el microscopio óptico, analizando 100 metafases por concentración para evaluar el tipo y número de aberraciones cromosómicas y el índice mitótico, como un parámetro de citotoxicidad, se realizara en un mínimo de 4000 células por animal y se aplicara la siguiente formula para su determinación:

$$\text{I.M.} = \frac{\text{No. de células en división}}{\text{No. total de células}} \times 100$$

DISEÑO ESTADÍSTICO

Una vez obtenidos los resultados del índice mitótico (IM), éstos se analizaron mediante la prueba de "Z" para diferencia de proporciones (Z) (Roldan, 1992), mientras que las aberraciones cromosómicas (AC), fueron analizadas por la prueba de ji cuadrada (X² con tabla de contingencias de 2X2).

9. RESULTADOS

9.1 ÍNDICE MITOTICO

Se analizó el índice mitótico (IM) de los animales tratados con cloruro de litio y el de los grupos testigo (negativo y positivo) tanto del fémur derecho como del fémur izquierdo. Los resultados muestran que no hay diferencias significativas entre ambos fémures, por lo que se realizó el promedio de los valores y el análisis de los datos se efectuó con el valor de las medias correspondientes (Tabla 3).

Al comparar el IM del grupo testigo negativo (2.63 ± 0.30 %) con el IM de los animales tratados, se observó un incremento estadísticamente significativo de éste parámetro en todos los tratamientos (Tabla 3; Figura 2), sin embargo dentro de los lotes tratados con el LiCl se apreció una tendencia a disminuir el valor del índice mitótico conforme aumenta la concentración del cloruro de litio. Para los tratamientos con $3 \mu\text{g/g}$ de peso del ratón se obtuvo un IM de 8.60 ± 1.35 %, mientras que para los tratamientos de $6 \mu\text{g/g}$ fue de 6.77 ± 1.05 %, para $12 \mu\text{g/g}$ de 5.34 ± 2.23 %, para $24 \mu\text{g/g}$ el IM fue de 4.88 ± 1.82 % y para el de $48 \mu\text{g/g}$ el IM fue de 4.60 ± 0.77 %.

El índice mitótico para el tratamiento de MMC no presentó diferencia significativa con respecto al testigo negativo (2.34 ± 1.43 % vs 2.63 ± 0.30 %).

TABLA 3.- ÍNDICE MITÓTICO EN CÉLULAS DE LA MÉDULA ÓSEA DE RATONES TRATADOS CON CLORURO DE LITIO

TESTIGO NEGATIVO			
RATON No.	FEMUR IZQUIERDO	FEMUR DERECHO	X ± D.E.
1	2.45	2.17	2.30
2	2.80	1.95	2.37
3	4.00	1.90	2.95
4	2.30	3.50	2.90
X ± D.E.	2.89 ± 0.67	2.38 ± 0.65	2.63 ± 0.30
MMC 4µg/g			
1	2.40	2.80	2.60
2	3.95	5.10	4.50
3	0.07	1.20	0.60
4	1.70	1.60	1.65
X ± D.E.	2.03 ± 1.39	2.68 ± 1.52	2.34 ± 1.43
LiCl 3µg/g			
1	10.10	10.90	10.50
2	6.30	8.60	7.80
3	10.50	5.20	7.80
4	7.60	6.50	7.00
X ± D.E.	8.63 ± 1.74	7.80 ± 2.16	8.60 ± 1.35ab
LiCl 6µg/g			
1	6.70	7.90	7.30
3	5.97	4.57	5.30
4	9.10	6.40	7.70
X ± D.E.	7.26 ± 1.34	6.29 ± 1.36	6.77 ± 1.05ab
LiCl 12µg/g			
1	3.00	5.10	4.05
2	1.27	3.76	2.52
3	7.60	5.30	6.45
4	7.90	8.80	8.35
X ± D.E.	4.94 ± 2.88	5.74 ± 1.86	5.34 ± 2.23ab
LiCl 24µg/g			
1	6.70	7.60	7.15
2	3.65	1.25	2.45
3	4.00	3.85	3.92
4	7.20	4.80	6.00
X ± D.E.	5.39 ± 1.58	4.38 ± 2.27	4.88 ± 1.82ab
LiCl 48µg/g			
1	4.10	4.95	4.52
2	6.70	5.05	5.80
3	3.27	4.00	3.64
4	4.30	4.60	4.45
X ± D.E.	4.59 ± 1.28	4.56 ± 0.37	4.60 ± 0.77ab

a) $P < 0.001$ VS. el testigo (-), con prueba de Z para diferencia de proporciones.

b) $P < 0.001$ VS. el testigo (-), con prueba de "t" de Student.

9.2 ABERRACIONES CROMOSÓMICAS

9.2.1 ESTRUCTURALES

En la tabla 4 se muestran los resultados de las alteraciones cromosómicas estructurales tanto en los animales del grupo testigo positivo (MMC) y negativo, como los obtenidos en los tratamientos con las diferentes concentraciones de LiCl. Al comparar el porcentaje de células que presentaban aberraciones cromosómicas (AC) en el testigo negativo (2.65 ± 2.26) con los datos obtenidos en los diferentes tratamientos, se encontró un incremento en todos los grupos tratados con cloruro de litio (7.07 ± 3.38 para $3 \mu\text{g/g}$, 3.24 ± 1.93 para $6 \mu\text{g/g}$, 23.70 ± 2.89 para $12 \mu\text{g/g}$, 23.5 ± 7.42 para $24 \mu\text{g/g}$ y 20.28 ± 3.50 para el tratamiento de $48 \mu\text{g/g}$ de ratón), observando el mismo comportamiento para el total de aberraciones cromosómicas.

Al analizar el número de fragmentos sencillos en comparación con el testigo negativo (2.25 %) se observó un incremento estadísticamente significativo en todas las dosis utilizadas (5.0 % para $3 \mu\text{g}$; 2.33 % en $6 \mu\text{g}$; 26.75 % para $12 \mu\text{g}$, de 28.75 % para el tratamiento de $24 \mu\text{g}$ y de 21.75 % para el tratamiento de $48 \mu\text{g}$ de LiCl (Tabla4).

En cuanto al número de fragmentos dobles solo se observó un incremento en el tratamiento de $24 \mu\text{g}$ de Li (0.50) con respecto al testigo negativo (0.24), aunque dicho incremento no es estadísticamente significativo (Tabla 4).

Cuando se analizaron otro tipo de aberraciones cromosómicas estructurales, se encontró en el testigo negativo un 0.25 % de translocaciones, mientras que en el tratamiento de $3 \mu\text{g}$ fue de 0.50 %, en el de $12 \mu\text{g}$ de 1.0 % y de 0.5 % en el de $48 \mu\text{g}$. Tanto en el tratamiento de $6 \mu\text{g}$ como en el de $24 \mu\text{g}$ de LiCl no se observó la aparición de translocaciones.

Al cuantificar el número de anillos solo en el tratamiento de 6 μ g fue el único en el que se observó un 0.33 % de anillos (Tabla 4).

En este trabajo no se encontraron otro tipo de aberraciones cromosómicas estructurales como son los cromosomas tri o tetra radiados, tampoco se observaron polifragmentos o pulverizaciones en ninguno de los tratamientos de Cloruro de Litio, pero si en todos los lotes tratados con mitomicina C.

TABLA 4 - ABERRACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES EN CELULAS DE LA MEDULA OSEA DE RATONES TRATADOS CON CLORURO DE LITIO

TESTIGO NEGATIVO										
No RATON	No CELULAS	CELA C (%)	FRAG SENCILLOS (X ± d.e)	FRAG DOBLES (X ± d.e.)	TRANSLOCACIONES (X ± d.e)	ANILLOS (X ± d.e)	TRIRRADIOS (X ± d.e.)	TETRARRADIODIO (X ± d.e)	POLIFRAGMENTOS (X ± d.e)	PULVERIZACIONES (X ± d.e)
1	102	3/102 (2.94)	3	0	0	0	0	0	0	0
2	104	5/104 (5.76)	5	0	1	0	0	0	0	0
3	103	1/103 (0.97)	1	0	0	0	0	0	0	0
4	104	1/104 (0.96)	0	1	0	0	0	0	0	0
TOTAL	413	11/413 (2.66)	9	1	1	0	0	0	0	0
X ± D.E.		2.65 ± 2.26	2.25 ± 1.92	0.25 ± 0.5	0.25 ± 0.5	0	0	0	0	0
MMC 4 µg/g										
1	103	87/103 (84.5)	432	3	1	4	1	2	4	0
2	104	79/104 (75.9)	249	3	0	2	0	0	2	1
3	53	40/53 (75.47)	166	4	0	0	1	0	2	1
4	90	72/90 (80.0)	308	2	0	2	0	0	4	7
TOTAL	350	278/350 (79.43)	1155	12	1	8	2	2	12	9
X ± D.E.		79.0 ± 4.22	289 ± 111.9	3.0 ± 0.82	0.25 ± 0.5	2.0 ± 1.63	0.5 ± 0.58	0.5 ± 1.0	3.0 ± 1.15	2.67 ± 3.79
LiCl 3 µg/g										
1	91	5/91 (5.59)	6	0	0	0	0	0	0	0
2	104	8/104 (7.69)	6	0	1	0	0	0	0	0
3	90	10/90 (11.11)	7	1	0	0	0	0	0	0
4	104	3/104 (2.90)	1	0	1	0	0	0	0	0
TOTAL	389	27/389 (6.94)	20	1	2	0	0	0	0	0
X ± D.E.		7.07 ± 3.38*	5.0 ± 2.71*	0.25 ± 0.5	0.5 ± 0.58	0	0	0	0	0

TABLA 4.- CONTINUACION

LiCl 6 µg/g No. RATON	No. CELULAS	CEL/A.C (%)	FRAG. SENCILLOS (X ± d.e.)	FRAG DOBLES (X ± d.e.)	TRANSLO- CACIONES (X ± d.e.)	ANILLOS (X ± d.e.)	TRI RRADIOS (X ± d.e.)	TETRARRA DIO (X ± d.e.)	POLIFRAGME NTOS (X ± d.e.)	PULVERI- ZACIONES (X ± d.e.)
1	93	1/93 (1.07)	1	0	0	0	0	0	0	0
3	104	4/104 (3.85)	1	0	0	1	0	0	0	0
4	104	5/104 (4.80)	5 *	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	301	10/301 (3.32)	7	0	0	1	0	0	0	0
X ± D.E.		3.24 ± 1.93	2.33 ± 2.31*	0	0	0.33 ± 0.58	0	0	0	0
LiCl 12 µg/g										
1	105	25/105 (23.80)	30	0	1	0	0	0	0	0
2	104	22/104 (21.15)	20	0	1	0	0	0	0	0
3	104	22/104 (22.15)	26	0	1	0	0	0	0	0
4	101	28/101 (27.72)	31	0	1	0	0	0	0	0
TOTAL	414	97/414 (23.42)	107	0	4	0	0	0	0	0
X ± D.E.		23.70 ± 2.89**	26.75 ± 4.99**	0	1.0 ± 0.0	0	0	0	0	0
LiCl 24 µg/g										
1	92	18/92 (19.56)	28	2	0	0	0	0	0	0
2	94	32/94 (34.04)	36	0	0	0	0	0	0	0
3	104	24/104 (23.07)	24	0	0	0	0	0	0	0
4	104	18/104 (17.30)	27	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	394	92/394 (23.35)	115	2	0	0	0	0	0	0
X ± D.E.		23.5 ± 7.42**	28.75 ± 5.12**	0.5 ± 1.0	0	0	0	0	0	0

TABLA 4.- CONTINUACION

LiCl 48µg/g No RATON	No CELULAS	CEL/A.C (%)	FRAGMEN- TOS SENCILLOS	FRAGMEN- TOS DOBLES	TRANSLO- CACIONES	ANILLOS	TRI RRADIOS	TETRARRA DIO	POLIFRAGME NTOS	PULVERI- ZACIONES
1	104	24/104 (23.07)	19	0	1	0	0	0	0	0
2	104	24/104 (23.07)	35	0	1	0	0	0	0	0
3	104	20/104 (19.23)	18	0	0	0	0	0	0	0
4	95	15/95 (15.78)	15	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	407	83/407 (20.39)	87	0	2	0	0	0	0	0
X ± D E		20.28 ± 3.50**	21.75 ± 9.0**	0	0.5 ± 0.58	0	0	0	0	0

*P < 0.05 vs el testigo (-), con prueba de Chi-cuadrada

**P < 0.001 vs el testigo (-) con prueba de Chi-cuadrada

9.2.2 NUMÉRICAS

Al analizar la frecuencia de poliploidías y compararlas con las observadas en el testigo negativo (0.24 %) se obtuvieron 1.02% en la concentración de 30 μ g, 0.66% para 60 μ g, 1.69% en 120 μ g, 0.76% para 240 μ g y 1.25% para 480 μ g de LiCl, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los tratamientos comparadas con el testigo negativo (tabla 5).

Tabla 5.- ABERRACIONES NUMERICAS (POLIPLOIDIAS) INDUCIDAS POR LIC1 EN CELULAS DE MEDULA OSEA DE RATON A DIFERENTES CONCENTRACIONES

TRATAMIENTO (mg/10g)	TOTAL DE RATONES	CELULAS CON A. C. (%)	POLIPLOIDIAS (%)
TESTIGO (-)	4	11/413 (2.66)	1/413 (0.24)
MMC	4	278/350 (79.43)	1/350 (0.28)
3	4	27/389 (6.94)*	4/389 (1.02)
6	3	10/301 (3.32)*	2/301 (0.66)
12	4	97/414 (23.42)**	7/414 (1.69)*
24	4	92/394 (23.35)**	3/394 (0.76)
48	4	83/407 (20.39)**	5/407 (1.22)

* P < 0.05 vs el testigo (-) con prueba de Chi-cuadrada

** P < 0.001 vs el testigo (-) con prueba de Chi-cuadrada

DISCUSIÓN

Las personas están expuestas a una amplia variedad de sustancias naturales y otras hechas por las manos del hombre. En ciertas circunstancias estas exposiciones causan efectos adversos en la salud, que van en severidad desde cambios biológicos casi imperceptibles hasta la muerte. El deseo creciente de la sociedad de identificar y prevenir estos efectos ha apresurado la dramática evolución de la Toxicología como un medio de estudio de las sustancias venenosas (Franc, 1995).

La rápida industrialización de las décadas pasadas y el incremento de la contaminación ambiental ha llevado a reactivar el interés en la investigación de los metales y sus compuestos como potenciales mutágenos, carcinógenos y teratógenos para el humano. Recientemente se ha desarrollado una creciente variedad de sustancias conteniendo metales para uso en la industria, la agricultura y en la medicina. En consecuencia se puede decir que los humanos, en particular, pueden estar expuestos a varias formas de compuestos metálicos, además de la conocida contaminación ambiental (Manzo, 1992). Algunos metales son un tipo importante de elementos tóxicos, los cuáles han sido también identificados como carcinógenos en animales de laboratorio (Furst, 1978). Una posible explicación para estos efectos es la interacción de estos elementos con el ADN y con la maquinaria genética, resultando con esto un daño el cual provoca cambios a nivel celular que conllevan en algunos casos a una neoplasia.

En el presente trabajo se encontró que en todos los animales tratados con cloruro de litio el índice mitótico fue mayor que el mostrado por los animales del grupo testigo, sin embargo al analizar el IM dentro de los ratones tratados se pudo apreciar que a menor dosis mayor IM, y que al aumentar la dosis de litio la tendencia del IM fue a disminuir pero no llegó al normal (Fig.2).

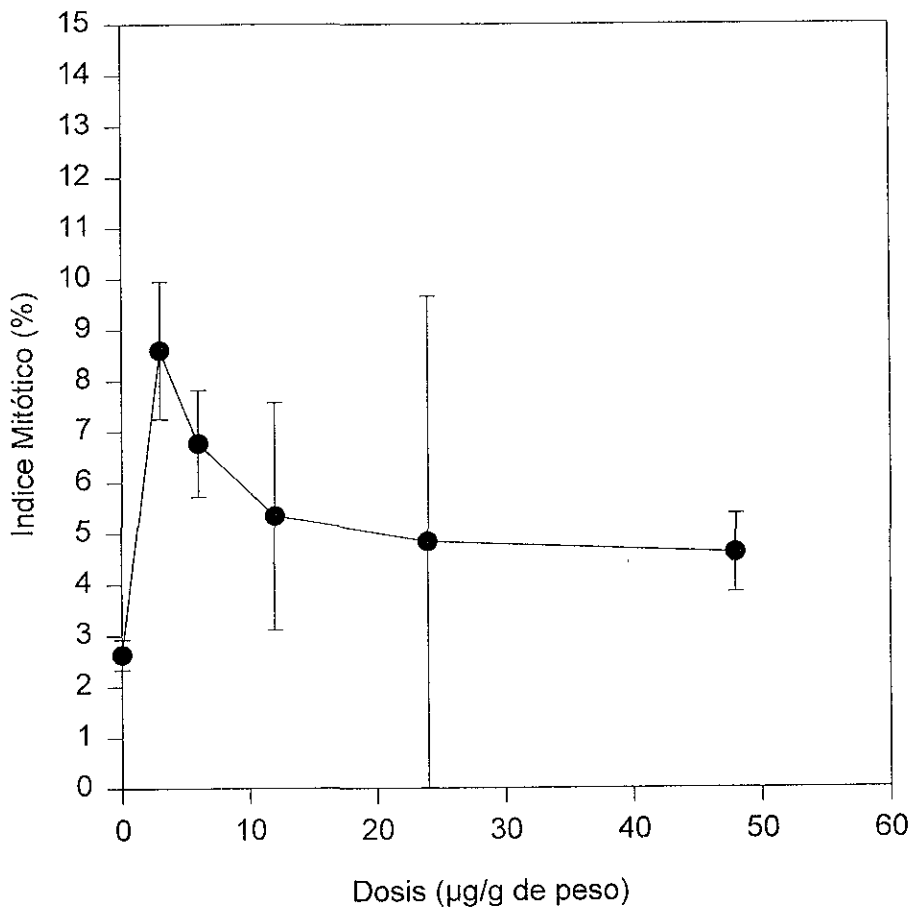


Figura 2. Índice mitótico en la médula ósea de ratones tratados con cloruro de litio (media \pm d.e.)

El índice mitótico (IM) es un parámetro que ha sido utilizado ampliamente para evaluar la proliferación de linfocitos en niños, adultos y ancianos (Palma y col., 1993; Tice y col., 1978), así como el células normales y tumorales (Schneider y col., 1981), ya que este parámetro es considerado como un biomarcador temprano en la exposición a xenobióticos (Ostrosky, 1993). Los químicos que interfieren con la polimerización de la tubulina mediante su enlace a los residuos sulfhidrilo de las proteínas involucradas inducen paro mitótico (Hsu y Satya-Prakash, 1985; Liang y Briankley, 1985), aunque otro de los mecanismos de acción es por medio de la inhibición de enzimas o rutas metabólicas importantes para la célula, de tal modo que impidan la división y en muchos casos la muerte de la célula. La mayoría de los metales presentan el primer mecanismo de acción.

En la mayoría de los trabajos realizados con diferentes compuestos de litio se ha encontrado que este metal reduce el IM tanto *in vitro* (dosis terapéuticas de litio: 0.5-1.5mg/10ml de medio de cultivo) como en pacientes tratados con carbonato de litio (Genest y Villeneuve, 1971; Friederich y Nielsen, 1969; De La Torre y Krompotic, 1976; Sierra, 1996). Los datos del presente trabajo muestran que las dosis de cloruro de litio empleadas no tienen efecto citostático en este sistema de prueba, dado que incrementa la multiplicación celular, lo cual puede ser un potencial efecto carcinogénico.

Se ha reportado que pequeñas dosis de mutágenos, específicamente la radiación, y algunos de los metales más tóxicos como el Vanadio (V), el Torio (Th), el Litio (Li) y el Talio (Tl), inducen respuestas homeostáticas conocidas como hórmosis (Hickey y Clelland, 1983) (Figura 3). El hecho de que bajas dosis de litio sean capaces de estimular la proliferación celular puede deberse a este efecto hormótico.

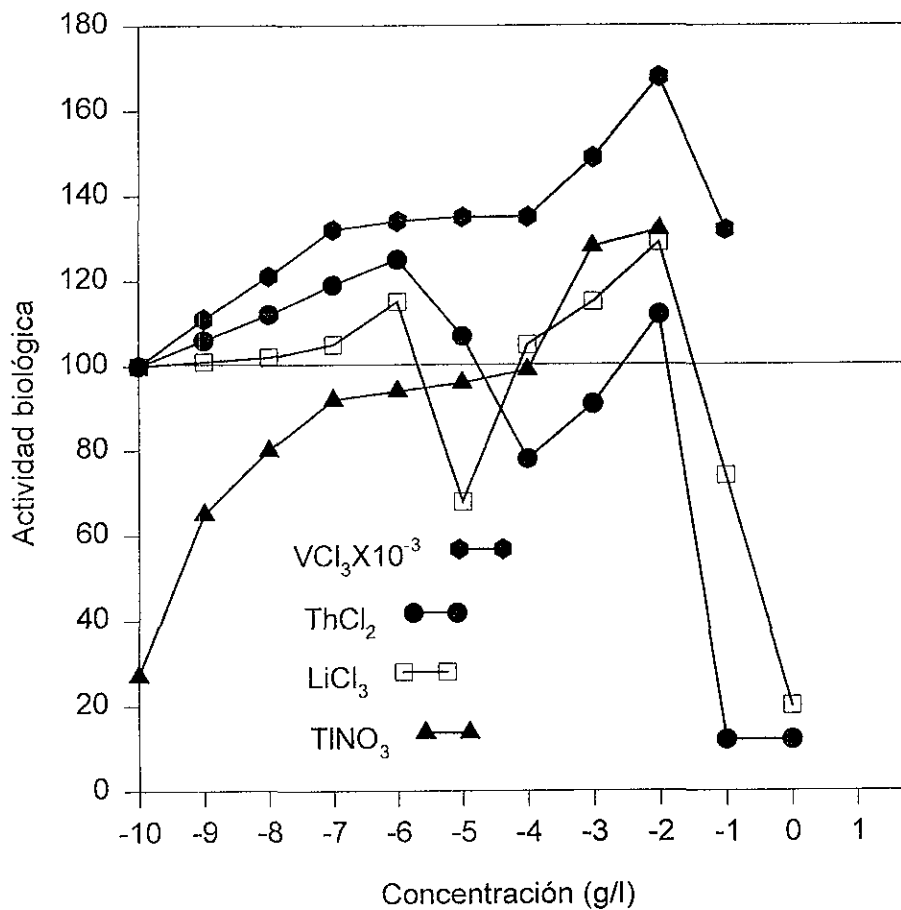


Figura 3.- Efecto hormónico mostrado por algunos metales en sistemas biológicos

En la reacción dosis-respuesta hay tres componentes que se observan como tres curvas separadas y son consideradas como un evento continuó del efecto de algún agente. En primer término tenemos que las consideraciones generales de cada agente en toxicología es la acción de daño, mientras que las consideraciones individuales de un nutriente esencial o de una hormona, generalmente sugiere una acción positiva. El tercer componente es la acción estimuladora como se sobreentiende en investigaciones con hormonas y se observa en muchos estudios con dosis mínimas de materiales tóxicos (Figura 4).

Estas consideraciones de las curvas dosis-respuesta, lleva al concepto de Hormosis, o sea el estudio de la excitación, por lo que la tesis de la hórmosis es que algún agente dañino puede ser estimulador para algún parámetro cuando es administrado en cantidades subtóxicas a un organismo (Luckey, 1974).

Un gran número de agentes pueden ser estimuladores cuando son administrados en diluciones 10 a 100 veces menores a las cantidades dañinas (Luckey,1974), observando que en determinadas concentraciones la respuesta se detiene y conforme se aumenta la dosis se inicia la respuesta tóxica hasta conducir a la muerte (Figura 5).

El hecho de que el litio puede ser esencial para la vida fue sugerido por Code (1949) durante sus trabajos clínicos sobre su efectividad para aliviar la depresión mental. A través de la revisión de anteriores trabajos con litio, este mostró ser estimulador en una gran variedad de sistemas y de esa manera tener un potencial hormónico, potencial que se observó en este trabajo, observándose además que conforme se incrementaba la dosis de litio el IM disminuía, haciendo sospechar de que a dosis mas altas que las probadas en este estudio podrían llegar a ser citotóxicas.

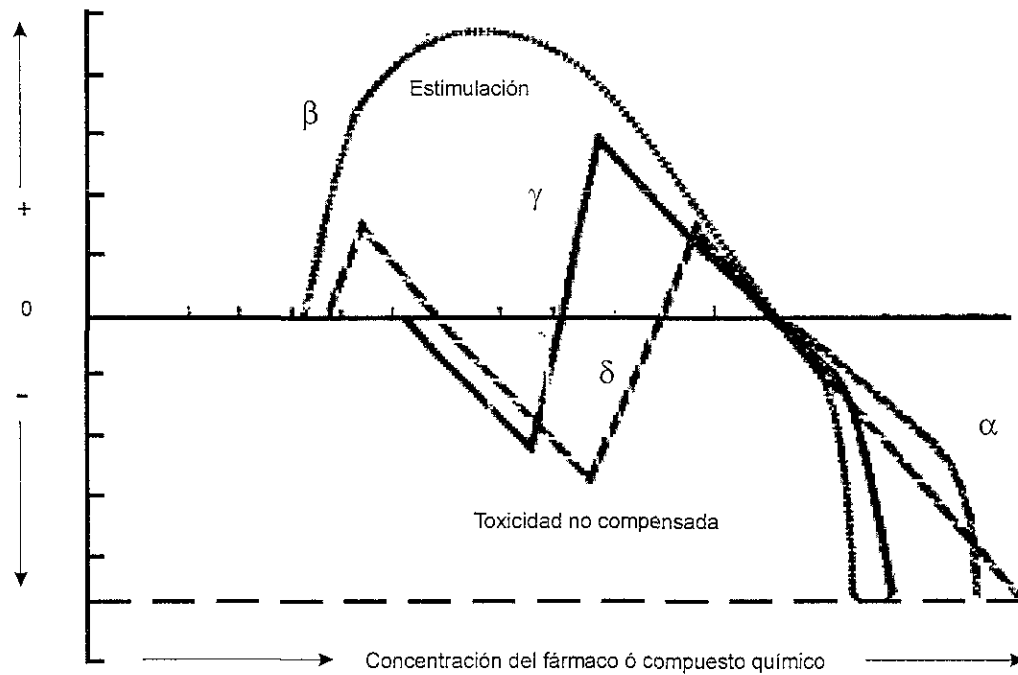


Figura 4 - Cuatro tipos de relaciones dosis-respuesta encontradas en fármacos (Townsend and Luckey, 1960). La curva α no parte de cero. La respuesta de estimulación β se puede encontrar en un amplio rango de de concentraciones utilizadas. Las curvas γ y δ son respuestas poco frecuentes

Hórmosis por agentes químicos

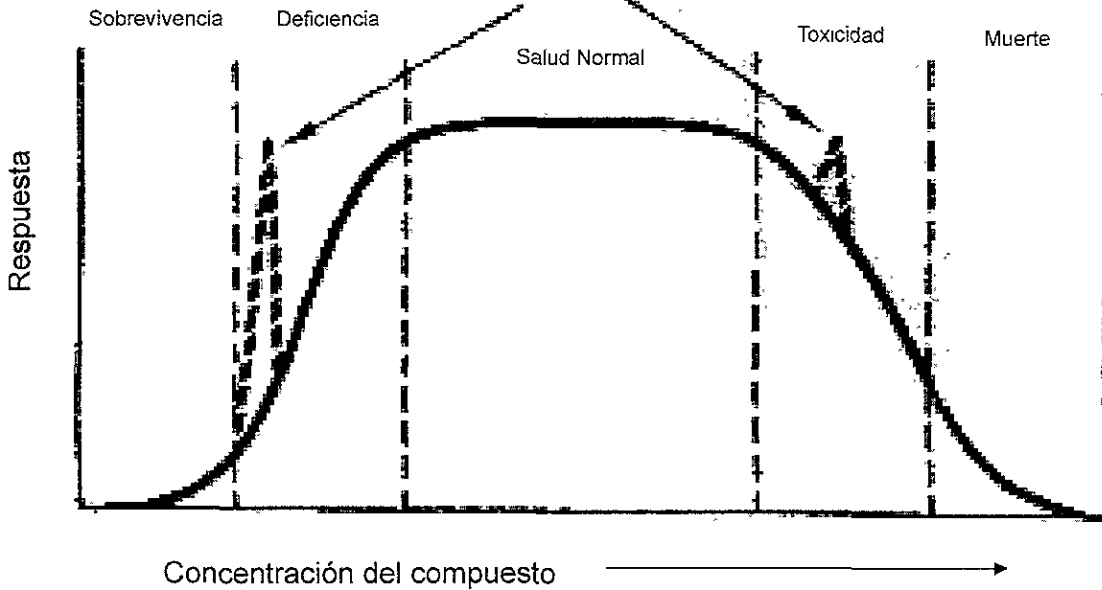


Figura 5.- Relaciones de dosis respuesta de compuestos químicos (adaptado de Venugopal y Luckey, 1974)

Trabajos anteriores sugieren que este metal es esencial para la función oxidativa (respiración) en la membrana nuclear, este resultado comprueba los informes de Richet (1906) quien reportó que el cloruro de litio es uno de los varios compuestos que inducen mayor fermentación en la leche cuando es utilizado en cantidades subtóxicas (Figura 3) y el trabajo de Voeleker (1912) quien encontró que 10 ppm de LiNO_3 es estimulador y 30 ppm es tóxico para cultivos celulares, además de describir que el litio incrementa el crecimiento en la planta de tabaco.

Los conocimientos de las vías de toxicidad de los metales, sugieren que no hay un mecanismo común. El potencial genotóxico depende de la biodisponibilidad de las especies actuales y parecen predominar dos mecanismos de acción, a saber: la formación de oxígeno reactivo y otras especies de radicales que conducen a la oxidación dañina del ADN y la interferencia de la reparación y/o procesos de replicación del ADN. Hay creciente evidencia de que la inhibición de los procesos de replicación del ADN provee un importante mecanismo en la genotoxicidad de compuestos metálicos, considerando la vía de reparación por escisión de nucleótidos en células eucarióticas como principal blanco (Harwin, 1995). Por ejemplo En ratas, después de la administración prolongada de litio, decrece la síntesis de reparación de ADN por escisión y se incrementan los niveles de peroxidación de lípidos en la corteza y en el hipotálamo (Sram y col., 1990). Altas concentraciones de LiCO_3 (3 mg/ml) inhiben significativamente la síntesis de ADN en células V79 de hámster Chino y en fibroblastos EUE de humano (Slameňova y col., 1986a). El cloruro de litio incrementa la síntesis del ADN de manera independiente del tiempo y la concentración en células MDCK por la disminución intracelular de la concentración de potasio (Suh, 1992).

Las alteraciones genéticas inducidas por agentes químicos pueden ocurrir por la interacción de estos con el ADN a través de diversos mecanismos, por ejemplo

intercalación, alquilación, ligamiento y ruptura de cadenas. Como resultado, se generan cambios en las secuencias de las bases, por ejemplo sustituciones, corrimientos o deleciones. Es posible que produzcan además alteraciones en el aparato mitótico y con ello se modifiquen el número de cromosomas por anomalías en la segregación. Los efectos directos sobre el ADN se producen en su mayoría durante su replicación, mientras que las alteraciones en el aparato mitótico ocurren durante la división celular, de ahí que estas células sean más vulnerables a la acción de dichos fármacos. Afortunadamente la mayoría de las lesiones causadas durante la replicación pueden ser reparadas por sistemas enzimáticos, mientras que las causadas durante la mitosis o meiosis no pueden ser corregidas (Cortinas, 1980)

Los mecanismos de formación de aberraciones cromosómicas y de intercambio de cromátidas hermanas en células tratadas con agentes químicos pueden describirse como un proceso de recombinación iniciado durante la reparación del ADN dañado o la replicación de un templete dañado (Latt, 1981; Puertas, 1992). Esto es, los daños inducidos en el ADN por agentes mutágenos, están sujetos en algunos casos a la reparación (Perry y Thomson, 1984) por lo que las lesiones no reparadas o mal reparadas originan mutaciones puntuales y aberraciones cromosómicas importantes. Los mecanismos de mutagénesis de los metales, aún no están completamente aclarados (Leonard, 1979; Flessel y coll, 1980; Bianchi y Lewis, 1984). El comportamiento de los metales parece involucrar un paso inicial del enlace covalente de los cationes metálicos con los sitios nucleofílicos en el ADN, proteínas cromosómicas, ADN polimerasa, o substratos nucleofílicos precursores. Estas interacciones afectan la fidelidad de los mecanismos de replicación del ADN e inducen ADN aberrante o genes de expresión anormales (Bianchi y Lewis 1984; Sunderman, 1984).

En el presente trabajo, los ratones tratados con cloruro de litio mostraron un incremento importante en la frecuencia de células que presentaban aberraciones cromosómicas, observándose que en las tres últimas dosis el porcentaje fue similar. Las aberraciones estructurales que se pudieron analizar fueron en forma de fragmentos sencillos, fragmentos dobles (Fig. 6) y translocaciones

Los estudios realizados empleando sistemas biológicos de prueba son realmente escasos, ya que la mayoría de los trabajos se han realizado en pacientes tratados terapéuticamente con estos compuestos.

Estudios de genotoxicidad empleando *Salmonella typhimurium*, células de ovario de hámster Chino y hepatocitos primarios de rata, modelos diseñados para evaluar el potencial mutagénico, el daño al ADN y aberraciones cromosómicas, mostraron que compuestos como el hipoclorito de litio (LiOCl) no es genotóxico (Weiner y col., 1990), mientras que en fracciones V79 de hámster Chino y células humanas EUE el Li manifestó un débil efecto mutagénico (Slameňova y col., 1986).

Por otro lado en ratas albinas tratadas intraperitonealmente con una solución acuosa al 0.06% de LiCO_3 , se encontró que este compuesto es efectivo durante el periodo postsintético, clasificando a esta droga como potencialmente mutagénica.

En estudios recientes empleando cultivos de linfocitos humanos tratados con LiCO_3 muestran que este compuesto si incremento el número de células con AC con respecto al grupo testigo, además de inducir un incremento en el total de células con asociación de satélites y un incremento en la frecuencia de ICH's por célula en todas las dosis con respecto al testigo (Sierra, 1996)

Desafortunadamente los trabajos realizados en personas expuestas ocupacionalmente a litio o en pacientes tratados con medicamentos que contienen este metal son muy pocos y la mayoría de las décadas de los 70 y la mitad de los 80. De estos, algunos de los reportes indican la ausencia de un incremento en la aparición de

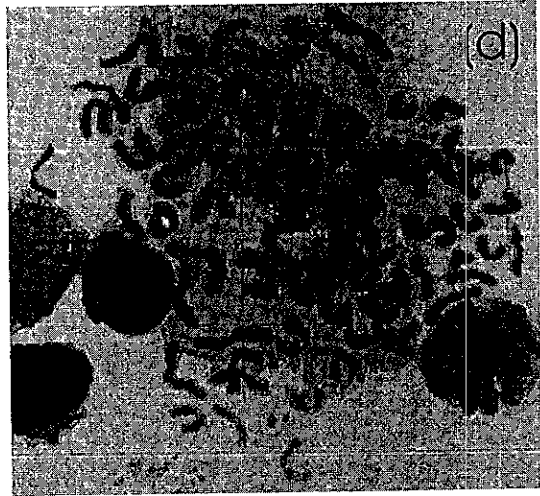
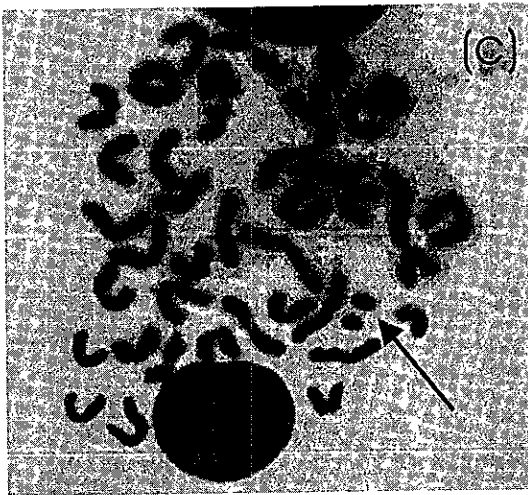
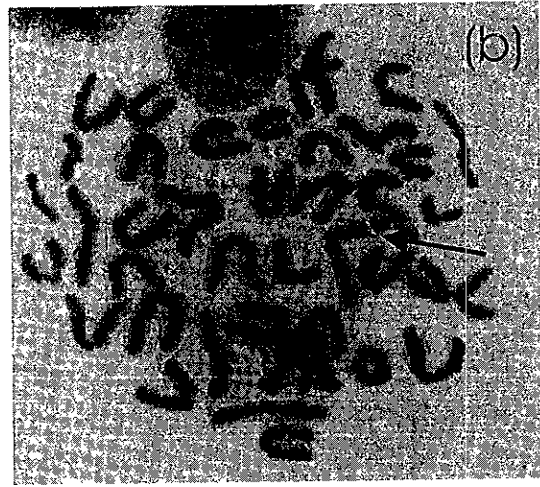
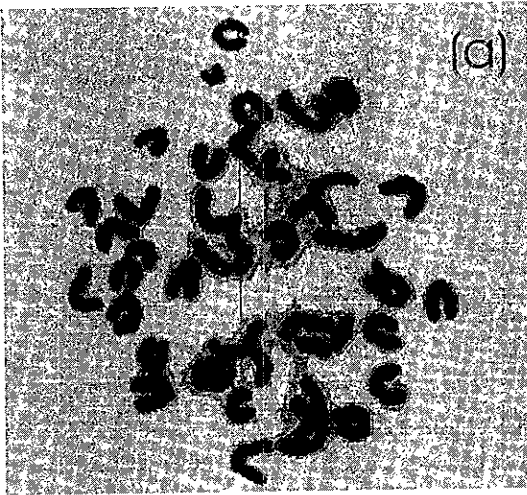


Figura 6 .- Cromosomas de ratón en metafase.
(a) normal; (b) Fragmento sencillo; (c) Fragmento
d o b l e ; (d) P o l i p l o i d í a .

rompimientos cromosómicos o de intercambio de cromátidas hermanas inducidos en pacientes psiquiátricos bajo tratamiento continuo con litio (Banduhn y col., 1980; Bille y col., 1975; Garson y col., 1981), por lo que estos autores lo consideran como un compuesto con nula actividad mutagénica.

Por otro lado hay datos que muestran que en ciertos pacientes bajo terapia con Li, este metal si incrementa las anormalidades cromosómicas, observando además un aumento en la incidencia de asociación de satélites (Kromptotic, 1975). En otro trabajo realizado se observó, en cultivos de sangre periférica de un grupo de pacientes maniacodepresivos tratados con carbonato de litio, un ligero pero significativo incremento en la frecuencia de rompimientos cromosómicos (3.3%) en comparación con los datos obtenidos de un grupo control (1.5%)(Jarvik y col., 1971).

En un trabajo realizado por Aoki y Ruedy (1971) en el cual se analizó la frecuencia de aberraciones cromosómicas en una mujer embarazada que estuvo sometida a un tratamiento prolongado con litio, se observó que en el caso de la madre no se incrementó este parámetro, sin embargo y de manera sorprendente se encontró un incremento de las aberraciones en el bebé de esta madre.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten establecer que bajo las condiciones de tratamiento utilizadas en este estudio y empleando un ensayo *in vivo* como es el ratón, el cloruro de litio es un agente clastogénico.

Se ha visto que en la mayoría de los trabajos realizados con este metal y cuando la dosis administrada es baja, los efectos clastogénicos frecuentemente no son observados, mientras que los resultados presentados en los informes contradictorios en pacientes tratados con medicamentos a base de litio, pueden deberse a un tamaño de la muestra pequeño y a la ausencia de adecuados controles pareados de edad y sexo (Leonard, 1995; Jarvik y col.,1971).

A pesar de que los resultados encontrados en la literatura muestran que los

compuestos de litio son seguros para su uso en el humano, uno de los mayores problemas es que en la actualidad las metodologías empleadas para el análisis genotóxico y mutagénico de los compuestos de uso en el humano son más completas, correlacionando en muchos de los casos dos o más tipos de acción en un mismo sistema.

Con el tiempo se han descrito muchos promotores de la carcinogénesis y se piensa que estos son capaces de incrementar la mitosis o el crecimiento selectivo de células preneoplásicas, o ambas. La idea de que la mitogénesis incrementa la mutagénesis ayuda a explicar la promoción y otros aspectos de la carcinogénesis, ya que una célula dividiéndose tiene más riesgo de mutación que una célula en reposo, y esto es debido a que, a pesar de que muchos de los mutágenos son agentes exógenos, hay mutágenos endógenos que causan daño masivo al ADN (por formación oxidativa y otras aducciones) (Ames, 1990).

Al igual que en el presente trabajo, en el cual se encontró que el cloruro de litio incrementaba el índice mitótico de la médula ósea de los ratones, se ha descrito que concentraciones terapéuticas del litio pueden estimular la proliferación de células cancerosas del pecho humano por mecanismos que pueden involucrar la vía fosfoinositida (Welshons y col., 1995).

Las propiedades farmacológicas del litio lo refieren como un estabilizante del humor, por lo que en general sus sales se incluyen dentro del grupo de agentes psicoactivos (Jurad, 1988; Cederic y Alan, 1993). En estudio de los efectos de la adición de litio a tratamientos neurolépticos en esquizofrenia crónica los resultados sugieren que la adición de litio a tratamientos neurolépticos mejora la depresión-ansiedad (Terao, 1995).

El uso de las sales de litio está muy difundido en medicina, ha tenido uso clínico en el tratamiento de pacientes maníaco-depresivos por cerca de cuarenta años, así

como en el tratamiento de otros desordenes y condiciones no psiquiátrico, sin embargo el mecanismo de su acción farmacológica no ha sido aclarado. Basado en investigaciones previas, se han propuesto algunos posibles mecanismos de acción del litio, a saber:

- A) Inhibición de la actividad adenilciclasa cerebral, activado adrenérgicamente.
- B) Inhibición del sistema de producción de fosfoinositido (FI), activado colinérgicamente (Savolainen y col., 1991).
- C) Competencia Mg^{+2} - Li^{+1} por sitios de unión de Mg^{+2} con biomoléculas.
- D) Disfunción de la membrana celular (Castro, 1996).

La administración crónica de sales de litio (cloruro y carbonato) provocan signos y síntomas adversos en el sistema nervioso, en el tracto digestivo, sistema cardiovascular, endocrino y renal, además de que puede haber una acción teratogénica y la intoxicación del recién nacido de una madre que recibe litio (Bouman y Rand, 1980; Gershon, 1970; Laurence, 1980; Schou, 1975; 1980; Tunnessen, 1972). Los neurolépticos también pueden tener un efecto adverso en el material genético de las células (en el ADN y otras moléculas bioactivas), ARN y proteínas, especialmente si la membrana celulares son simultáneamente dañadas (Binková y col., 1989).

Ya que los elementos del grupo IA: metales alcalinos; Litio (Li), Sodio (Na), Potasio (K), Rubidio (Rb), Cesio (Cs), exhiben una tendencia hormónica, al parecer la combinación de un electrón suelto y un fuerte ambiente electropositivo tienen un significado especial en biología. Los cambios exhibidos por diferentes cantidades de cada uno de los elementos en diferentes organelos celulares, pueden ser esperados más dependientes del tamaño del átomo y su relativa toxicidad que de la especificidad del elemento (Luckey, 1974) Debido a esto es posible establecer que el litio puede tener a largo plazo efectos secundarios importantes, como puede ser la inducción de cáncer, actuando como un promotor

11. CONCLUSIONES

En el presente estudio se encontró que el Cloruro de Litio promueve la división celular, ya que en todos los tratamientos se incremento el Índice mitótico comparado con el grupo testigo, por lo que se puede concluir que a bajas dosis tiene un efecto hormótico.

El efecto hormótico del litio permite suponer un potencial efecto carcinogénico a largo plazo.

El hecho de que en los animales tratados el valor del índice mitótico disminuye conforme aumenta la concentración, muestra que este compuesto a concentraciones elevadas puede ser un agente citotóxico.

Los resultados obtenidos muestran que el litio en las células de la médula ósea de ratón provoca la formación de aberraciones cromosómicas, principalmente aberraciones cromosómicas de tipo estructural, por lo que se considera un agente clastogénico.

BIBLIOGRAFIA

- Allen, J.W. y Latt, S.A. (1976) Analysis of sister chromatid exchange formation in vivo in mouse spermatogonia as a new test sistem for environmental mutagens. Nature. 260, 449-451.
- Allen, J. W., Shuler, C. F. y Latt, S A (1978) Bromodesoxiuridine for in vivo studies and DNA synthesis. Somat. Cell. Genet 4, 393-405.
- Altamirano, L. M , Alvarez, B. L., Roldán, R. E. (1993) Ctogenetic and teratogenic effects of vanadium pentoxide on mice. Med. Sci. Res. 21:711-713.
- Ames, B. N., Louis, S. G (1990) Too many rodent carcinogens: mitogenesis increases mutagenesis. Science, Vol. 49. 970-971.
- Andress, J. M., Frith, C. H., Goodman, D. G., Boysen, B. G., Cook, Ch. S (1992). The mouse animal models in toxicology. Drug and Chemical Toxicology/8, Eds. Shayne Cox Gad, Christopher P. Chengelis, Ed. Marcel Dekker, Inc. Ney york, 165-232.
- Aoki, F.Y., y Ruedy, J. (1971) Severe lithium intoxication. Management without dialysis and report of a posible teratogenic effect of lithium. Can. Med. Assoc. J., 105: 847-848.
- Baldessarini, R. J , y Vogt. M. (1988) Release of ³H-dopamine and analogous monoamines from rat striatal tissue. Cell. Mol. Neurobiol. 8. 205- 216.
- Banduhn, N., Obe, G., Muller-Oerlinghausen, B. (1980) Is lithium mutagenic in man? Pharmakopsychiatr Neuropsychopharmakol; Vol. 13, ISS 4.
- Bass, A.D., Yntema, C.I., Hammond, W.S. y Fraser, M.L. (1951) Studies on the mechanism by which sulphadiazine affects survival of the mammalian embryo. J. Pharmacol. Exp. Ther. 101:362-367.
- Berridge, M. J., Downes C. P. y Hanley M. R. (1982) Lithium amplifies agonist-dependent phosphetidylinositol responses in brain and salivary glands. Biochem. J. 206, 587-595.
- Berridge, M. J. (1984) Inositol trisphosphate and dyacilglycerol as second messengers. Biochem. J. 220, 345-360.
- Berridge, M. J. y Irvinc, R. F. (1984) Inositol Trisphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. Nature. 312. 315-321.

Bertram, M. J. (1993) *Farmacología Médica. Interamericana, México.* 942-943.

Bille, P. E., Jensen, M. K., Kaalund Jansen, J. P., Poulsen, J. C. (1975) Studies on the haematologic effect of lithium. *Acta Med Scand*; Vol. 198, ISS 4, 281-286.

Binková, B., Topinka, J, y Sram, R. (1989) Effect of psychotropic drugs on free radicals damage in human lymphocytes, in: C.N. Stefanis, C.R. Soldatos and A.D. Rabavilas (eds.) *Psychiatry Tday, ICS 889, excerpta Medical, Amsterdam*, p. 123.

Birch, N. J. (1976) Possible mechanisms for biological action of lithium, *Nature*, 204,681.

Birch, N. J. (1988) Lithium, in: Seiler, H.G., Sigel, H., y Sigel, A (Eds.), *Handbook on the toxicity of Inorganic Compounds*, Marcel Dekker, New York, pp.383-393.

Bowman, W. C. y Rand, M. J. (1980) *Texbook of Pharmacology 2nd Ed.* Blackwell Scientific Publications. London

Cade, J. F. (1949) Lithium salts in the treatment of psychotic excitement, *Med. J. Austr.* 36, 349-352.

Carson, B. L., Ellis, H. V., y McCann, J. L. (1978) Toxicology and biological monitoring of metals in human, including feasibility and need. *LewisPublishers, Inc. Michigan.* 1-7, 136-139.

Casebolt, T.L., y Jope, R.S. (1989) Long-term lithium treatment selectively reduces receptor-coupled inositol phospholipid hydrolysis in rat brain. *Biol. Psychiatry.* 25:329-340.

Castro, M. M. C. A., Nikolakopoulos, J., Zachariah, C., Freitas, D. M., Stubs Jr, E. B., Geraldés, C. F. G. C., Ramasamy, R. (1996) ⁷Li NMR study of lithium ion transport in perfused human neuroblastoma cells. In: *Metal Ions in Biology and Medicine. V-4.* Eds. Corolly, Ph., Corbella, J., Domingo, J. L., Etienne, J. M. and Llobet. J. L. *Eurotext, Paris.* pp 192-194.

Cederic, R. A. y Alan, A. L. (1993) *Farmacología Interamericana, México.* 360-364

Cortina de N. C. (1980) *Manual de métodos para la identificación de mutagenos y carcinogénos químicos ambientales. I. I. Biomedicas, UNAM. Méx.* V-1; 1-18.

Crossland, J. L. (1980) Pharmacology. 5th ed. Churchill Living-stone, London.

Deknut, G. H., y Dominatti, M. (1978) Chromosome studies in human lymphocytes in vitro exposure to metal salts. *Toxicology*. 10:67-75.

Deknut, G. H., y Gerber, G. B. (1979) Chromosomal aberrations in bone marrow cells in mice given a normal or a calcium deficient diet supplemented with various heavy metals. *Mut. Res.* 68:166-168.

De la Torre, R., Kromppotic, E. (1976) In vivo and in vitro effects of lithium on human chromosomes and cell replication. *Teratology* 13,131-138.

Duffus, J. H. (1983) *Toxicología ambiental*. Ed. Omega, España.

Drummond, A. H. (1987) Lithium and inositol lipid-linked signalling mechanisms. *Trends. Pharmacol. Sci.* 8. 129-133.

Elinder, C. G., Gerhardsson, L. y Oberdoerster, G. (1988) Biological monitoring of toxic metals. Clarkson, T. W., Friberg, L., Nordberg, G. y Sager, P. P. eds. Plenum Press, New York.

Environmental Health Criteria 46. (1985) Guidelines for the study of genetic effects in human populations. World Health Organization. Geneva. 28-39.

Frank, C. L. (1995) *Toxicología básica, riesgos por exposición a sustancias tóxicas*. Harla. México, pp.269

Friederich, U. y Nielsen, J. C. (1969) Lithium and chromosome abnormalities. *Lancet*. 2:435-436.

Furst, A. (1978) An Overview of Metal Carcinogenesis. In Schrauzen (ed): "Inorganic and Nutritional Aspects of Cancer." New York: Plenum Press. 1-12.

Garson, O. M., Latimer, N. Z., Chiu, E., Dixon, K. (1981) Chromosome studies of patients on long-term lithium therapy for psychiatric disorders. *Med. J. Aust*; Vol. 2, ISS 1. 37-39.

Genest, P., Villeneuve, A. (1971) Lithium, chromosomes, and mitotic index-letter. *Lancet* 1: 1132

Gershon, S. (1970) Lithium in mania. *Clin. Pharmacol. Ther.* 11, 168.

Gessner, G. H. (1975) Diccionario químico y de productos químicos. ed. Omega. Barcelona.

Ghatpande. K.S., Vaidya, K.P., Mulherkar. L. y Modak P.S. (1993) Lithium chloride and trypan blue induce abnormal morphogenesis by supressing cell population growth. *Develop. Growth Differ.* 35:409-419.

Ginestet, D. y Peron-Magnan, P. (1981) Manual de Psicofarmacología Trad. Cast. Toray-Masson, S. A. Barcelona.

Goodenough, U. (1981) Genética. ed. Omega. Barcelona. 171-213.

Goodman y Gilman. (1990) Bases farmacologicas de la terapeutica. Panamericana, 8va. Edn. México, 414-420

Hammond, P. B., Beliles, R. P (1980) Metals. In: Casaret and Doull's. Toxicology, the basic sciens of poisons Doull, J., Klaasen, C. D., Amdur, M. O. eds. New York. Macmillan. 409-467.

Hansen, K.D., Walker, C.R y Grafton, F.T. (1990) Effect of lithium on mouse and rat embryos *in vitro*. *Teratology* 41:155-160.

Harrington, R.N. y Lader, M.H. (1981a) Antidepressant drugs. En: Handbook of Biological Psychiatry. Pt. V, Drug Treatment in Psychiatry—Psychotropic Drugs. (Praag. H. M. Van, ed.) Capitulo 1; Marcel Dekker, Inc., New York.

Harrington, R.N y Lader, M.H. (1981b) Lithium. En: Handbook of Biological Psychiatry. Pt. V, Drug Treatment in Psychiatry—Psychotropic Drugs (Praag. H. M. Van, ed.) Capitulo 2; Marcel Dekker, Inc., New York,

Hatwig, A. (1995) Current aspects in metal genotoxicity, *Biometals*. 8. 3-11.

Hichey, R. J., Bowers, E. J., y Clelland, R. C. (1983) Radiation Hormesis, Public Health, and public policy: a commentery. *Health Physises*; 44-207

Hollister, L. E. (1969) Clinical use of psychoterapeutic Drugs: Current Status. *Clin. Pharmacol. Ther.* 10. 170.

Hollister, L. E. (1978) Psychiatric disorders. In: Melmon, K. L. y Morelli, H. F. *Clin. Pharmacol.* 2nd. ed. Macmillan Publishing Co., Inc., New York. 842.

Hook, E. B. (1985) The impact of aneuploidy upon public health: Mortality and morbidity associated with human chromosome abnormalities. In: Aneuploidy, Etiology and Mechanisms. Dellarco, V. L., Voytek, P. E. Y Hollander, A. eds. Plenum Press, New York.

Hsu, T. y Satya-Prakash, K , (1985) Aneuploidy induction by mitotic arrestants in animals cell systems. possible mechanisms, in: V. L. Dellarco, P. Voytec and A. Hollaender (Eds.), Aneuploidy, Plenum press, New York, pp. 279-289.

Jarvik, L.F., Bishun, N.P., Bleiweiss, H., Kato, T., Moralishvili, E. (1971) Chromosome examinations in patients on lithium carbonate. Arch. Gen. Psychiatry; Vol. 24 Iss Feb, pp 166-168.

Jefferson, J. W., Greist, J. H., Baudhin, M. (1985) Lithium in Psychiatry. In: Bach, R. O, ed. Lithium: Current Applications in Science, Medicine and Technology. New York. Wiley. 345-352.

Johaning, H. Møllerup, E., y Plenge, P. (1992) Serotonin receptors in the brain of rats treated chronically with lithium administered via the food or by intraperitoneal injections. Pharmacol. Toxicol. 70:72-74.

Johnson, F.N. (ed.) (1980) Handbook of Lithium Therapy. University Park Press. Baltimore.

Junrad, A. (1988) Teratogenic activity of lithium carbonate: an experimental update. Teratology; 38:101-111.

Lam, H.R. y Christensen S. (1992) Regional and subcellular localization of Li⁺ and other cations in the rat brain following long-term lithium administration. J. Neurochem. 59:1372-1380.

Latt, S. A., Allen, J., Bloom, S. E., Carrano, A., Falke, E., Kram, D., Schneider, E., Schreck, R., Tice, R., Whitfield, B. y Wolff, S. (1981) Sister chromatid exchanges; A report of genetox program. Mutat. Res. 87, 17-62.

Laurence, A.K., Amadeo, J.P. (1990) Química Clínica. Técnicas de Laboratorio-Fisiopatología- Métodos de Análisis Teoría, Análisis y Correlación. Ed. Médica panamericana, Argentina, pp. 1033-1044

Laurence, D.R. y Bennett, P.N. (1980) Clinical Pharmacology. 5th Ed. Churchill Livingstone, London.

Leonard. A., Hantson, Ph., Gerber, G. B. (1995) Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of lithium compounds. Mutation Res. 339 131-137

Levi, B.S (1968) A practicum for the use of lithium salts in effective Psychoses. J.A.M.A. 206:1045.

Liang, J. y B. Brinkley, (1985) Chemicals probes possible targets for the induction of aneuploidy, in: V. L. Dellarco, P. Voytec and A. Hollander (Eds.), Aneuploidy, Plenum Press, New. York. 491-506.

Lorenzo, V. B. (1987) Farmacología y su proyección a la clínica 15ª edn. ed. Oteo, España. 296-297.

Luckey, T. D. (1974) Hormology with inorganic compounds. Environ. Qual. Safety, 4: 81-103

Manzo, L., Costa, G.L., Tonini, M., Minoia, C. y Sabbioni, E. (1992) Metabolic studies as a basis for the interpretation of metal toxicity. Toxicol. Lett. 64/65:677-686.

Moutschen, J., (1982). Introduction of Genetic Toxicology. Ed. John Wiley y Sons. New York.

Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. (1980) Criterios de salud ambiental 6. Principios y métodos para evaluar la toxicidad de las sustancias químicas. Parte 1. Publicación Científica No. 402.

Ortiz, M. P. F., Cortinas de N. C. y Maffer, G. L.(1987) Manejo de los desechos Industriales peligrosos en México. Universo Veintiuno, México

Ostrosky, W. P., Santiago, P., Rojas, E. (1993) Alterations in the frequency of SCE and cell proliferation kinetics by cysticercosis. Env. Mol. Mut.: 21

Palma, V., Tudón, H., Buentello, L., Nava, S., Ostrsky-wegman P. y Salamanca, F. (1993). Methods for the analysis of Cellular Kinetics in PH Stimulated Blood Lymphocytes Using BrdU Incorporation. A Comparative Study. Mut. Res.

Perry, P. E., Thomson, E. J. (1981) Evaluation of sister chromatid exchange method in mammalian cells as a screening system for carcinogens. In de Serres, F.J, Ashby, J. (eds). "Evaluation of short-Term Test for carcinogens. Report of the International Collaborative Program. " New York. Elsevier North-Holland, Inc., pp 560-569.

Pesty, A., Lefevre, B., Kubiak, J., Geraud, G., Tesarik, J., Maro, B. (1994) Mouse oocyte mutation is affected by lithium via the polyphosphoinositide metabolism and the microtubule network. Mol. Reprod. Dev. 38:187-199.

- Prival, M. J. (1980) Genetic toxicology: Regulatory aspect. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* 3:99-111.
- Puertas, M. J. (1992) *Genética fundamentos y perspectivas*. Interamericana. Mc Graw-Hill. España. 243-272.
- Ribas, B. (1991) Lithium in: Merian, E. (Ed.), *Metals and their Compounds in the environmental*, 4ª. Edn. VCH, Weinheim, pp. 1014-1023.
- Rojas, E., Herrera, A.L., Sordo, M., Gonsebatt, M.E., Montero, R., Rodriguez, R. y Ostrosky, W.P. (1993) Mitotic index and cell proliferation kinetics for identification of antineoplastic activity. *Anti Cancer Drugs* 4:637-640.
- Rojas, E., Montero, R., Herrera, A.L., Sordo, M., Gonsebatt, M.E., Rodriguez, R., y Ostrosky, W.P., (1992). Are mitotic index and lymphocyte proliferation kinetics reproducibles in genetic toxicology testing?. *Mutat. Res.* 282:283-286.
- Savolainen, M.K., Muona, O., Nelson, R.S., Samson, E.F. y Pazdernik, L.T. (1991) Lithium modifies convulsions and brain phosphoinositide turnover induced by organophosphates. *Pharmacol. Toxicol.* 69:346-354.
- Schneider, E. L., Sternberg, H. y Tice, R. R. (1977). In vivo analysis of cellular replication. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*. 74, 2041-2044.
- Schneider, E. L., Nakanishi, Y., Lewis, J y Sternberg, H. (1981). Simultaneous examination of sister chromatid exchanges and cell replication Kinetics in tumor and normal cells in vivo. *Cancer Res.* 257. 147
- Schou, M. (1968) Lithium in psychiatric therapy and prophylaxis, *J. Psychiatr. Res.* 6, 67-95.
- Schuo, M. (1975) Usos del litio. En: Clark, W. G y Del Giudice, J. *Principios de farmacología*. Trad. Cast. La Prensa Médica Mexicana, México.718.
- Schuo, M. (1980) *Lithium treatment of Manic-Depressive Illness*. S. Karger, Basel.
- Shacklette, H. T., Erdman, J. A., Harms, T. F. y Papp, C. S. E. (1978) Trace elements in plant foodstuffs, in: Oehme, F. W. (Ed.), *Toxicity of heavy metals in the environment*, 4ª. Edn. Marcel Dekker, New York, pp. 25-68.
- Sharma, A. y Talukder, G. (1978) Effect of metals on chromosomes of higher organisms, *Environ. Mutagen.* 9, 191-226.

Shepard T.H. (1980) Catalog of teratogenic agents, 3ª. Ed. Baltimore: The Johnson Hopkins University Press.

Sierra, M. M. (1996) Estudio de la inducción de aberraciones cromosómicas, asociación de satélites e ICHs. En linfocitos humanos in vitro tratados con LiCO₃. UNAM, México.

Siviková, K., Dianovský J. (1995) Sister-chromatid exchange after exposure to metal-containing emissions. *Mutation Res.* 327:17 -22.

Slamenová, D., Budayová, E., Gábelová, A., Moravková, A, y Paviková. (1986^a) Results of genotoxicity testing of mazindol (Degonan), lithium carbonicum (Contemnlol) and dropropizine (Ditustat) in Chinese hamster V79 and human EUE cells, *Mutation Res.* 169, 171-177.

Solomon, P. y Patch, V. D. (1976) Manual de Psiquiatría. 2ª ed. Trad. Cast. El Manual Moderno, México.

Sposito, G. (1986) Distribution of potentially hazardous trace metals, in: H. Siggel (Ed), *Metal ions in biological systems*, Vol.20, 4ª. Edn. Marcel Dekker, New York, 1-20.

Srám, R. J., Binková, B., Topinka, J., y Fojtíková. (1990) Inhibition of DNA repair synthesis in the rat by in vivo exposure to psychotropic drugs and reversal of the effect by co-administration with α -tocoferol. *Mutation Res.* 224. 331-335.

Srivatava, S., Sharma, A., Talukder, G. (1986) Effects of lithium carbonate on cellular systems in mice. In: Manna, G. K., Sinha, U, eds. *Perspectives in cytology and genetics*; 5.381-386

Stokinger, H. E (1981) The metals. En: Patty's. *Industrial Higiene and Toxicology*, V-IIA. Clayton, G. D. y Clayton, F. E. Eds. John Wiley and Sons. New York. 1728-1739.

Suh, H., Natke, E., Nord, E. P., Goligorsky, M. S. (1992) Mitogenic effect of lithium and intracellular potassium deficiency. *Lithium.* 34. 275-279.

Szabo, K.T. (1969) Teratogenicity of lithium in mice. *Lancet.* 2:849.

Timson, J. y Price, D.J. (1971) Lithium and mitosis. *Lancet.* 1:93.

Tice, R. R., Thorne, P. y Schneider, E. L. (1979) Bisack anlysis of the Phytohaemagglutinin-induced proliferation of human peripheral lymphocytes. *Cell. Tiss. Kinet.* 12:1.

Terao, T., Oga, T., Nozaki, A., Ohtsubo, Y., Yamamoto, S., Zamarni, M., y Okada, M (1975) Lithium addition to neuroleptic treatment in chronic schizophrenia: A randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over study. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 92(3): 220-224.

Trosko, J. E., y Chang, C. C. (1978) Relationship between mutagenesis and carcinogenesis. *Photochem. Photobiol.* 28:157.

Tucker, D.J., Preston, J.R. (1996) Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchange, and cancer risk assessment. *Mutation Res.* 365:147-159.

Tunnessen, W. W. y Hertz, C. G. (1972) Toxic effects of lithium in newborn infants: A comentary. *J. Pediatr.* 81:804.

Vega, L., Gonsebatt, M. E. y Ostrosky, W. P. (1995) Aneugenic effect of sodium arsenite on human lymphocytes *in vitro*: an individual susceptibility effect detected. *Mutation Res.* 334:365-373.

Weiner, M. L., Batt, K. J., Putman, D. L., Curren, R. D., Yang, L. L. (1990) Genotoxicity evaluation of lithium hypochlorite. *Toxicology*; 65 (1-2). 1-22.

Welshons, W. V., Kathleen S. E., Julia, A. T., Leigh, H.G. y Edward, M. C (1995) Lithium-stimulated proliferation and alteration of phosphoinositide metabolites in MCF-7 Human breast cancer cells. *Journal of Celular Physiology* 165(1): 134-144

Wiltse, J. y Dellarco. L.V., (1995) U.S. Environmental Protection Agency *Guidelines for carcinogen risk assessment: Past and future.* *Mutation Res.* 365:3-15.

Zimmerman, F.K., Scheel. I. y Resnick. M.A. (1989) Induction of Chromosome loss by mixtures of organic solvents including neurotoxins. *Mutation Res.* 224/2:287-303.