



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"CUAUTITLAN"

ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS CONGENERES DEL BRANDY  
SOBRE EL INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS  
(ICH) in vivo e in vitro.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE;  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A :  
MARIA DEL ROCIO CALDERON VARGAS

Director de Tesis: Dr. Eduardo Madrigal Bujaidar  
Asesora: M. C. Sandra Diaz Barriga Arceo

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN 1988.

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx.



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

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

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

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

CONTENIDO.	PAGINA
I. INTRODUCCION.	1
1. HISTORIA, DEFINICION E INCIDENCIA DEL ALCOHOLISMO.	1
2. DAÑO A LA SALUD PRODUCIDO POR EL CONSUMO DE BEBIDAS ALCOHOLICAS.	2
3. GENOTOXICOLOGIA Y ALCOHOLISMO.	5
4. INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS.	11
5. CINETICA DE LA PROLIFERACION CELULAR.	13
II. OBJETIVOS.	15
III. MATERIAL Y METODOS.	16
1. OBTENCION DE RESIDUOS.	16
2. PREPARACION DE LAS DOSIS.	16
3. SISTEMA <i>in vitro</i> .	17
a) SIEMBRA.	17
b) COSECHA.	17
c) PREPARACION DE LAMINILLAS.	18
d) TINCION.	18
e) ANALISIS DE LAMINILLAS.	19
f) ANALISIS ESTADISTICO.	19
4. SISTEMA <i>in vivo</i> .	20
a) IMPLANTACION DE TABLETA DE BrdU.	20
b) OBTENCION DE LA MEDULA OSEA.	20

c) PREPARACION DE LAMINILLAS	21
d) TINCION.	21
e) ANALISIS DE LAMINILLAS.	21
f) ANALISIS ESTADISTICO.	21
IV. RESULTADOS.	22
1. ESTUDIO <i>in vitro</i> .	22
a) MITODEPRESION.	22
b) INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS.	22
c) CINETICA CELULAR.	23
2. ESTUDIO <i>in vivo</i> .	23
a) INDICE MITOTICO.	23
b) INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS.	23
c) CINETICA CELULAR.	24
V. DISCUSION.	41
CONCLUSIONES.	48
ABREVIATURAS.	49
INDICE DE TABLAS Y FIGURAS.	50
BIBLIOGRAFIA.	53

## I. INTRODUCCION.

### 1. HISTORIA, DEFINICION E INCIDENCIA DEL ALCOHOLISMO.

LA HISTORIA DEL ALCOHOL SE INICIA EN EL PALEOLITICO SUPERIOR CUANDO LAS MUJERES, O LOS CUARANDEROS, EMPIEZAN A PREPARAR REMEDIOS O POCIONES MAGICAS FERMENTANDO PLANTAS O FRUTAS SILVESTRES. DESDE ENTONCES, HASTA EL PRESENTE, ALGUNAS TRIBUS USAN BEBIDAS QUE CONTIENEN ALCOHOL CON PROPOSITOS MEDICINALES, PARA PROVOCAR ESTADOS ANIMICOS MAGICOS O PARA OBTENER EXTASIS RELIGIOSO O COMUNICACION CON LA DIVINIDAD. EL CONSUMO DE ALCOHOL ESTA UNIDO A LA HISTORIA DE LA HUMANIDAD, LLEGANDO A EXTENDERSE SU USO HASTA LOS EXTREMOS QUE CONDUCCEN AL ALCOHOLISMO (1).

EL ALCOHOLISMO ES UN GRAVE PROBLEMA DE SALUD MUNDIAL. EN MEXICO ESTO SE REFLEJA EN LOS DAÑOS QUE CAUSA FISICA Y MENTALMENTE AL INDIVIDUO, EN SU SEGURIDAD, ECONOMIA Y RELACIONES INTERPERSONALES (2).

SE ESTIMA QUE EL 5.7% DE LA POBLACION MAYOR DE 20 AÑOS (1.7 MILLONES DE HABITANTES APROX.) EN MEXICO, PUEDE CONSIDERARSE ALCOHOLICA. EL CONSUMO PER CAPITA EN 1984, EN LA POBLACION MAYOR DE 15 AÑOS FUE DE 72.3 LITROS DE ALCOHOL (2).

SE HAN DADO MUCHAS DEFINICIONES DEL ALCOHOLISMO, PERO

ESTOS PODRIAN CONSIDERARSE COMO LOS RASGOS ESENCIALES DEL CONCEPTO DE ALCOHOLISMO:

ES UNA ACTIVIDAD DEL SER HUMANO RELACIONADA CON EL USO DE BEBIDAS QUE CONTIENEN ALCOHOL ETILICO. LA CANTIDAD DEL ALCOHOL QUE SE BEBE ES EXCESIVA Y EN FORMA CRONICA, DANDOSE ASI UNA PERDIDA DE LA LIBERTAD DEL INDIVIDUO. ESTA PERDIDA DE LIBERTAD FRENTE AL USO DE LAS BEBIDAS ALCOHOLICAS ES UNA IMPRONTA DEFINITIVA E INDELEBLE (3).

2. EL DAÑO A LA SALUD PRODUCIDO POR EL CONSUMO DE BEBIDAS ALCOHOLICAS.

ES BIEN CONOCIDO EL DAÑO QUE CAUSA AL ORGANISMO EL CONSUMO EXCESIVO DE ALCOHOL. EL ALCOHOLISMO ES LA PRINCIPAL CAUSA DE CIRROSIS HEPATICA EN MEXICO Y SE HA OBSERVADO QUE LA CIRROSIS HEPATICA SE ENCUENTRA ENTRE LAS DIEZ PRIMERAS CAUSAS DE MUERTE EN LA POBLACION EN GENERAL Y OCUPA EL PRIMER LUGAR ENTRE LA POBLACION MASCULINA ENTRE LOS 25 y 44 AÑOS (2).

AUNQUE EL ALCOHOL PUEDE TRASTORNAR LA FUNCION DE CASI TODOS LOS ORGANOS, LOS EFECTOS CLINICOS APARECEN INICIALMENTE EN EL APARATO DIGESTIVO Y EN EL SISTEMA NERVIOSO. ENTRE LAS ALTERACIONES DEL APARATO DIGESTIVO ESTAN: NAUSEA Y VOMITO, GASTRITIS, ULCERA PEPTICA, SINDROME DE MALLORY - WEISS, HEPATITIS ALCOHOLICA, CIRROSIS Y PANCREATITIS. EN EL SISTEMA

NERVIOSO: INTOXICACION ALCOHOLICA, SINDROME DE WERNICKE-KORSAKOFF, POLINEUROPATIA, DEGENERACION CEREBELAR, ATROFIA CEREBRAL (6) (TABLA 1).

LOS MECANISMOS DE ACCION SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO, SON DESDE EL PUNTO DE VISTA BIOQUIMICO TODAVIA MUY OSCUROS, TANTO PARA LAS INTOXICACIONES AGUDAS, COMO PARA LAS MANIFESTACIONES CRONICAS. EN CAMBIO EXISTE BASTANTE INFORMACION EN RELACION CON LA BIOQUIMICA DE LOS EFECTOS DEL ALCOHOL SOBRE EL HIGADO Y SUS ALTERACIONES A NIVEL CELULAR (4,5). LA INGESTION DEL ALCOHOL AUMENTA LOS REQUERIMIENTOS DE VITAMINAS Y SUSTANCIAS LIPOTROPICAS. EL ALCOHOL ES UN AGENTE DESPOLARIZANTE DE LAS MEMBRANAS CELULARES Y ES ASI COMO PUEDE AFECTAR EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y OTROS TEJIDOS. TAMBIEN PROVOCA CAMBIOS TRANSITORIOS EN LA PRESION OSMOTICA. EL MECANISMO MAS PROBABLE PARA EXPLICAR SU ACCION ES QUE EL ALCOHOL ALIFATICO INTERACTUA CON LOS COMPONENTES LIPIDOS DE LAS MEMBRANAS Y PUEDE CAMBIAR LAS CARGAS FIJAS DE SU SUPERFICIE. EL ALCOHOL EN DOSIS ALTAS NO LETALES TIENE UNA DEFINIDA ACCION *in vivo* SOBRE LA EXCITABILIDAD Y CONDUCTIBILIDAD DEL MUSCULO CARDIACO, EL METABOLISMO INTERMEDIO DEL HIGADO Y SOBRE LOS MECANISMOS ENZIMATICOS REGULADORES DEL CONTENIDO INTRACELULAR DE SODIO Y POTASIO EN EL RIÑON Y OTROS ORGANOS. COMO EL HIGADO ES PRACTICAMENTE EL UNICO ORGANNO CAPAZ DE METABOLIZAR EL ALCOHOL PORQUE TIENE UNA ENZIMA ESPECIFICA PARA OXIDARLO: LA DESHIDROGENASA

TABLA 1. EFECTO DEL ALCOHOL SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO (8).

- I. INTOXICACION ALCOHOLICA: EMBAIAGUEZ, COMA, EXCITACION (INTOXICACION PATOLOGICA).
- II. SINDROME DE ABSTINENCIA O DE SUPRESION: TEMBLORES, ALUCINOSIS, ATAQUES DE RON Y DELIRIUM TREMENS.
- III. ENFERMEDADES NUTRICIONALES DEL SISTEMA NERVIOSO SECUNDARIAS AL ALCOHOLISMO.
  - A) SINDROME DE WEARNICKE-KORSAKOFF.
  - B) POLINEUROPATIA.
  - C) NEUROPATIA OPTICA (AMBLIOPIA TABACO-ALCOHOL).
  - D) PELAGRA.
- IV. ENFERMEDADES DE PATOGENIA INCIERTA, ASOCIADAS CON ALCOHOLISMO.
  - A) DEGENERACION CEREBELAR.
  - B) ENFERMEDAD DE MARCHIAFAVA-BIGNANI.
  - C) MIELINOLISIS CENTRAL DE LA PROTUBERANCIA.
  - D) ATROFIA CEREBELAR.
  - E) CARDIOMIOPATIA Y MIOPATIA ALCOHOLICA.
- V. PADECIMIENTOS NEUROLOGICOS, CONSECUENCIA DE CIRROSIS DE LAENNEC Y DESVIACIONES PORTOSISTEMICAS.
  - A) ESTUPOR Y COMA HEPATICOS.
  - B) DEGENERACION HEPATOCEREBRAL CRONICA.



ALCOHOLICA; SE PUEDE SUPONER QUE EL HIGADO SE ENCARGA DE IMPEDIR QUE EL ALCOHOL INGERIDO PASE A OTROS SITIOS, ESPECIALMENTE EL SISTEMA NEUROLOGICO CENTRAL, TANTO EN LAS INTOXICACIONES AGUDAS COMO EN LA ENFERMEDAD CRONICA (1).

### 3. GENOTOXICOLOGIA Y ALCOHOLISMO.

CAUZ COKE Y COLS. SUGIRIERON QUE EL ALCOHOLISMO SE HEREDABA DE MANERA RECESIVA LIGADA AL CROMOSOMA X, PUESTO QUE SE ENCONTRARON UN NUMERO SIGNIFICATIVO DE PACIENTES ALCOHOLICOS CON CEGUERA AL COLOR, ENTIDAD QUE SE HEREDA DE LA MISMA MANERA, LOS HALLAZGOS DE AMARX APOYABAN ESTA HIPOTESIS, PERO POSTERIORMENTE WINOKUR ESTUDIO GRANDES GRUPOS DE ALCOHOLICOS Y LOS SOMETIO A UN RIGUROSO ANALISIS ESTADISTICO, SIN OBSERVAR EVIDENCIA ALGUNA QUE SUGIRIERA QUE EL ALCOHOLISMO SE HEREDARA EN FORMA RECESIVA LIGADA AL CROMOSOMA X, DEBIDO A ESTO, ESTA TEORIA SE DESHECHO. EL MECANISMO HEREDITARIO DEL ALCOHOLISMO SE DESCONOCE Y SI BIEN EXISTEN FACTORES GENETICOS, SEGURAMENTE PREDISPONENTES, LOS FACTORES AMBIENTALES JUEGAN UN PAPEL MUY IMPORTANTE (7,8,9, 10).

EN LA ACTUALIDAD PODRIA CATALOGARSE AL ALCOHOLISMO COMO UNA ENFERMEDAD MULTIFACTORIAL, LO QUE IMPLICARIA EL CONCURSO DE VARIOS GENES Y DE UN MEDIO DESENCADENANTE (11).

OTRO ASPECTO NOCIVO DEL ALCOHOL ES SU EFECTO TERATOGENICO. DESDE 1968 SE SEÑALO QUE EXISTIAN CIERTAS MALFORMACIONES CONGENITAS EN HIJOS DE MADRES ALCOHOLICAS (12). EN EXTENSO ESTUDIO EN INGLATEARRA, COMUNICADO EN 1977 SE SEÑALO QUE EL 32% DE LOS FETOS DE MADRES ALCOHOLICAS PRESENTABAN MALFORMACIONES CONGENITAS, EN CONTRASTE CON EL 9% DE NIÑOS MALFORMADOS HIJOS DE MADRES NO BEBEDORAS (13).

A ESTE CONJUNTO DE MALFORMACIONES CONGENITAS SE LE CONOCE COMO SINDROME "FETAL ALCOHOLICO" Y SU FRECUENCIA ES DE APROXIMADAMENTE 3-5/1000 NACIDOS VIVOS (14).

LAS MANIFESTACIONES CLINICAS DEL SINDROME SON VARIABLES GENERALMENTE ESTA ALTERADO EL CRECIMIENTO, EL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y PRESENTAN MALFORMACIONES FACIALES (15). LAS ANORMALIDADES MAS FRECUENTES SE MUESTRAN EN LAS TABLAS 2 Y 3.

SI BIEN SE SABE QUE EL ALCOHOL ATRAVIESA LA BARRERA PLACENTARIA, NO SE CONOCE CON EXACTITUD SI ES EL ALCOHOL MISMO EL QUE ACTUA COMO TOXINA O SI EL EFECTO ES PRODUCIDO POR ALGUNO DE SUS METABOLITOS (16).

POR LO ANTERIOR, EL ALCOHOLISMO MATERNO DEBE SER CONSIDERADO COMO UNA CAUSA MAS DE RETARSO MENTAL Y DE MALFORMACIONES CONGENITAS. LAS ALTERACIONES DESCRITAS OCURREN

**TABLA 2. HALLAZGOS FRECUENTES EN EL SINDROME FETAL ALCOHOLICO (11).**

HALLAZGO	MANIFESTACION
<b>ALTERACIONES EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL:</b>	
INTELLECTUAL	RETRASO MENTAL MODERADO
NEUROLOGICO	MICROCEFALIA, HIPOTONIA
CONDUCTA	IRRITABILIDAD EN LA INFANCIA HIPERACTIVIDAD EN LA ADOLESCENCIA
<b>DEFICIENCIA DE CRECIMIENTO:</b>	
PRENATAL	-2 DS*DE PESO Y TALLA
POSTNATAL	-2 DS*DE PESO Y TALLA TEJIDO ADIPOSEO DISMINUIDO
<b>CARACTERISTICAS FACIALES:</b>	
OJOS	FISURAS PALPEBRALES PEQUEÑAS
NARIZ	FILTRUM HIPOPLASICO
MANDIBULA	HIPOPLASICA
BOCA	LABIO SUPERIOR DELGADO RETROGNATIA EN LA INFANCIA MICROGNATIA EN LA ADOLESCENCIA

\* DESVIACION STANDAR.  
MODIFICADO DE CLARREN, S. 1978.

TABLA 3. ANOMALIDADES ASOCIADAS EN EL SINDROME FETAL ALCOHOLICO (11).

AREA	FRECUENTE	OCCASIONAL
OJOS	PTOSIS, ESTABISMO, PLIEGUE EPICANTICO.	MIOPIA, MICROFTALMIA, BLEFAROFIMOSIS
OREJAS	ROTACION POSTERIOR.	
BOCA	PUNTES PALATINOS LATERALES PROMINENTES.	PALADAR Y LABIO HENDIDO
CORAZON	DEFECTO ATRIAL SEPTAL.	TETRALOGIA DE FALLOT. DEFECTOS SEPTALES VENTRICULARES.
RENOGENITALES	HIPOPLASIA LABIAL.	HIPOSPADIAS, HIDRONEFROSIS.
PIEL	HEMANGIOMAS.	HIASUTISMO.
ESQUELETO	PECTUS EXCAVATUM.	MOVIMIENTOS ARTICULARES LIMITADOS. POLIDACTILIA, ESCOLIOSIS
MUSCULAR		HERNIA DIAFRAGMATICA, DIASTASIS DE RECTOS.

in utero y NO SON ESTRICTAMENTE GENÉTICAS, SIN EMBARGO SE DEBE ESTAR ALERTA DEL EFECTO NOCIDVO DEL ALCOHOL (11).

SE HA VISTO QUE LAS ABERRACIONES CROMOSOMICAS SON SIGNIFICATIVAMENTE MAS ELEVADAS EN PERSONAS ALCOHOLICAS QUE EN LAS QUE NO LO SON, LO QUE COINCIDE CON LA OBSERVACION DE QUE LAS BEBIDAS ALCOHOLICAS TAMBIEN TIENEN UN EFECTO CANCERIGENO. EPIDEMIOLOGICAMENTE SE HA DEMOSTRADO UNA CORRELACION ENTRE CONSUMO DE ALCOHOL Y CANCER DE BOCA, FARINGE, LARINGE Y ESOFAGO (17), (18).

EL PRINCIPAL COMPONENTE DE LAS BEBIDAS ALCOHOLICAS ES EL ETANOL, PERO ADEMAS ESTAN CONSTITUIDAS DE MUCHOS OTROS COMPUESTOS QUE SE FORMAN DURANTE LA FERMENTACION, PROCESAMIENTO Y AÑEJAMIENTO. A ESTOS COMPUESTOS SE LES LLAMA CONGENERES. EL CONTENIDO DE CONGENERES REFLEJA EL ORIGEN DE LA BEBIDA (MATERIA PRIMA O LA FERMENTACION, PROCESOS DE DESTILACION Y AÑEJAMIENTO) (19), (20).

ENTRE ESTOS COMPUESTOS SE ENCUENTRAN ALCOHOLES DE BAJO PESO MOLECULAR, ALDEHIDOS, ESTERES, PLOMO, FIERRO, COBALTO, HISTAMINAS, ADITIVOS, AGENTES COLORANTES, TANINOS, FENOLES Y UN GRAN NUMERO DE COMPUESTOS ORGANICOS (SABORIZANTES) E INORGANICOS EN PEQUEÑAS CANTIDADES (19).

EL CONTENIDO DE CONGENERES DE BEBIDAS ALCOHOLICAS COMERCIALES ES SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE PARA CADA TIPO DE

BEBIDA, Y HAY GRANDES VARIACIONES ENTRE BEBIDAS DE LA MISMA CLASE (19).

DIVERSOS ESTUDIOS HAN DEMOSTRADO QUE DEBE TOMARSE EN CUENTA LA PRESENCIA DE ESTAS SUBSTANCIAS, CUANDO SE EVALUAN LOS PROBLEMAS CAUSADOS POR EL ALTO CONSUMO DE BEBIDAS ALCOHOLICAS (19)

SE HA ENCONTRADO QUE LOS CONGENERES CONTIENEN MUTAGENOS DE ACCION DIRECTA E INDIRECTA EN EXPERIMENTOS CON *Salmonella typhimurium* (17).

SE DICE QUE UN COMPUESTO ES UN MUTAGENO DE ACCION DIRECTA CUANDO NO REQUIERE DE ACTIVACION METABOLICA PARA SER MUTAGENICO, EN CAMBIO UN MUTAGENO DE ACCION INDIRECTA SI REQUIERE DE ESTA ACTIVACION, QUE SE PUEDE LLEVAR A CABO EN LOS SISTEMAS *in vitro* AGREGANDO S9 DE HIGADO DE RATA, QUE ES UNA FRACCION MICROSOMAL CON ACTIVIDAD ENZIMATICA QUE SE PREPARA POR CADA 100  $\mu$ l DE FRACCION S9 DE HIGADO DE RATAS MACHO INDUCIDAS CON FENOBARBITAL, CON LA ADICION DE 2  $\mu$ MOL DE NADPH, 2.5  $\mu$ MOL DE G6P, 2  $\mu$ MOL DE NADH, 2.5  $\mu$ MOL DE ATP, 4  $\mu$ MOL DE MgCl<sub>2</sub>, 16.5  $\mu$ MOL KCl y 50  $\mu$ MOL DE BUFFER DE FOSFATO DE SODIO (pH 7.4) (21), (22).

SE HA ENCONTRADO TAMBIEN QUE VARIAS BEBIDAS ALCOHOLICAS POSEEN CONGENERES QUE AUMENTAN LA FRECUENCIA DE INTERCAMBIOS

DE CROMATIDAS HERMANAS EN LINFOCITOS HUMANOS *in vitro* (12).

AUNQUE SE HA POSTULADO QUE EL ACETALDEHIDO, PRIMERA METABOLITO DEL ETANOL ES EL PRINCIPAL AGENTE MUTAGENO-CARCINOGENICO, LOS CONGENERES, COMO SE HA MENCIONADO ANTERIORMENTE JUEGAN UN PAPEL MUY IMPORTANTE (17), (21).

#### 4. INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS.

LOS INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS SON UN INDICE ALTAMENTE SENSITIVO PARA DETECTAR LA POSIBLE ACCION MUTAGENICA SOBRE LOS CROMOSOMAS CAUSADA POR AGENTES QUIMICOS O CONTAMINANTES AMBIENTALES (23).

EN 1957 TAYLOR ESTUDIO EL FENOMENO DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS (ICH), LOS CUALES PODIAN SER IDENTIFICADOS EN LA SEGUNDA DIVISION DESPUES DE LA MARCACION CON TIMIDINA TRITIADA ( $^3\text{H}\text{Tdr}$ ) (24). RECIENTEMENTE SE HAN ELABORADO METODOS CITOLOGICOS MUCHO MAS SIMPLES Y EFICACES PARA EL ESTUDIO DE ICH, LOS CUALES SE BASAN EN EL EMPLEO DE 5-BROMO-2-DEOXIURACINA (BrdU), SUSTANCIA QUE SE INCORPORA AL ADN CELULAR EN REEMPLAZO DE LA TIMINA. LAS CELULAS QUE SE DIVIDEN EN PRESENCIA DE BrdU DURANTE DOS CICLOS CELULARES, DEBIDO A LA FORMA SEMICONSERVATIVA DE REPLICACION DEL ADN, INCORPORAN LA BrdU EN LAS CROMATIDAS DE LOS CROMOSOMAS DE MANERA MUY CARACTERISTICA (25), (FIGURA 1).

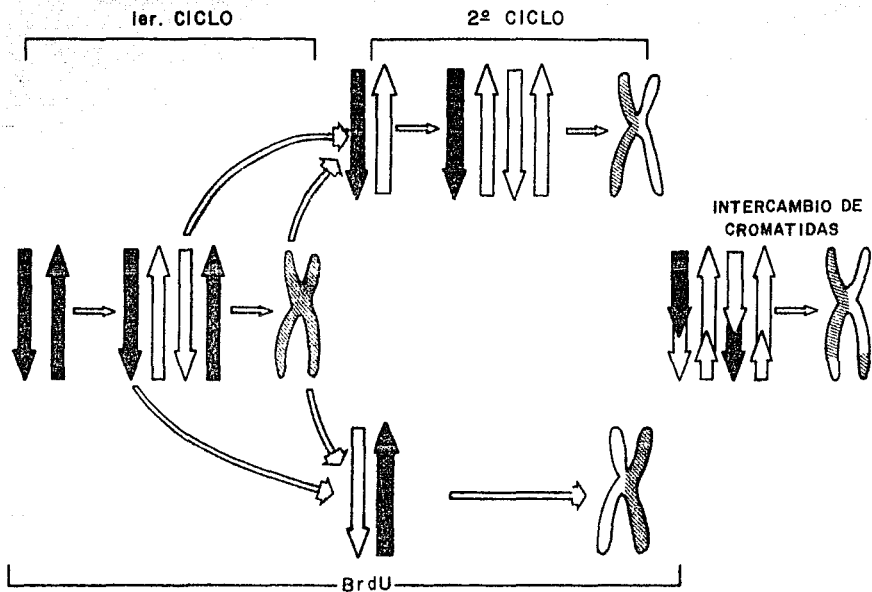


FIGURA 1 ESQUEMA DE INCORPORACION DEL BrdU A LOS CROMOSOMAS. LAS FLECHAS NEGRAS INDICAN LAS CADENAS DE ADN LIBRES DE BrdU, Y LAS CLARAS, LAS CADENAS DE ADN CON BrdU. DESPUES DE UN CICLO EN BrdU CADA CROMATIDA HERMANA DE UN CROMOSOMA ESTA FORMADA POR UNA CADENA DE ADN CON BrdU Y OTRA SIN BrdU. AL FINALIZAR EL SEGUNDO CICLO EN BrdU, UNA CROMATIDA ESTARA FORMADA POR UNA CADENA CON BrdU Y OTRA CADENA SIN EL COMPUESTO, EN TANTO QUE LA OTRA CROMATIDA HERMANA TENDRA BrdU EN AMBAS CADENAS.



ACTUALMENTE SE SABE QUE ALGUNOS FLUOROCROMOS, COMO LA NAARANJA DE ACRIDINA O EL HOECHST 33258, PRODUCEN UNA FLUORESCENCIA CROMOSOMICA CUYA INTENSIDAD ES INVERSAMENTE PROPORCIONAL A LA CANTIDAD DE BrdU CONTENIDA EN LA MOLECULA DE ADN (26), (27). ADEMÁS, SI LAS PREPARACIONES CITOLÓGICAS RECIBEN UN TRATAMIENTO ESPECIAL ES POSIBLE TERNIR LOS CROMOSOMAS CON EL COLORANTE GIEMSA Y OBTENER UNA INTENSIDAD DE TINCION QUE TAMBIEN ES INVERSAMENTE PROPORCIONAL A LA CANTIDAD DE BrdU (28).

#### 5. CINETICA DE LA PROLIFERACION CELULAR.

LA CINETICA DEL CICLO CELULAR NOS INDICA EL CRECIMIENTO QUE SE LLEVA A CABO EN UN CULTIVO CELULAR, TOMANDO EN CUENTA LOS CICLOS CELULARES SE PUEDE HABLAR DE CELULAS DE PRIMERA, SEGUNDA, TERCERA O MAS GENERACIONES.

LA FORMA EN QUE SE MIDE LA CINETICA CELULAR EN EL LABORATORIO CONSISTE EN EL CONTEO DEL NUMERO DE METAFASES QUE SE ENCUENTRAN EN PRIMERO, SEGUNDO O TERCER CICLO DE REPLICACION CELULAR, ESTO SE HACE EN UN TOTAL DE 100 CELULAS. ESTO ES POSIBLE PORQUE LA INCORPORACION DE LA BrdU EN EL ADN EN REEMPLAZO DE LA TIMINA HACE QUE LOS CROMOSOMAS ADQUIERAN UNA APARIENCIA CARACTERISTICA AL TERNIRLOS.

UN PARAMETRO UTIL PARA ANALIZAR LA CINETICA CELULAR ES EL INDICE DE REPLICACION QUE SE OBTIENE DE LA SIGUIENTE MANERA:  $I.R. = \%M1x1 + \%M2x2 + \%M3x3/100$  ; DONDE M1 REPRESENTA LAS METAFASES DE PRIMERA GENERACION, M2 LAS METAFASES DE SEGUNDA GENERACION Y M3 LAS METAFASES DE TERCERA GENERACION (29).

POR MEDIO DE ESTE PARAMETRO SE PUEDE OBSERVAR SI EL CICLO CELULAR SE HA VISTO ALTERADO POR UN DETERMINADO COMPUESTO. EN EL SISTEMA *in vivo* SE UTILIZA OTRO METODO, EL TIEMPO DE GENERACION PROMEDIO (TGP) QUE RELACIONA EL INDICE DE REPLICACION CON EL TIEMPO DE EXPOSICION A LA BrdU:

$TGP = \text{NUMERO DE HORAS DE BrdU} / (M1) + 2(M2) + 3(M3) \times 100$   
ESTE METODO ES DE GRAN SENSIBILIDAD PARA DETECTAR ALTERACIONES EN LA CINETICA DEL CICLO CELULAR (30).

## II. OBJETIVOS.

COMO LOS ESTUDIOS QUE SE REFIEREN AL EFECTO MUTAGENICO DEL RESIDUO DE LAS BEBIDAS SON ESCASOS, SE DECIDIO EFECTUAR EL PRESENTE TRABAJO CON LOS SIGUIENTES OBJETIVOS:

1. OBTENER LOS RESIDUOS DE BRANDY ELIMINANDO LA FASE ACUOSA Y LA FASE ALCOHOLICA.

2. DETERMINAR LA CAPACIDAD MUTAGENICA DE DICHS RESIDUOS POR MEDIO DE DOS SISTEMAS: *in vivo* e *in vitro*.

3. HACER UNA EVALUACION GENOTOXICA EN LA CUAL SE ESTUDIARAN LOS SIGUIENTES ASPECTOS EN AMBOS SISTEMAS:

a) INDICE MITOTICO.

b) FRECUENCIA DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS.

c) CINETICA DE LA PROLIFERACION CELULAR.

4. COMPARAR LOS RESULTADOS OBTENIDOS *in vivo* e *in vitro*.

### III. MATERIAL Y METODOS.

#### 1. OBTENCION DE RESIDUOS.

LOS RESIDUOS SE OBTUVIERON POR DESTILACION A PARTIR DE UN BRANDY COMERCIAL (PRESIDENTE DE PEDRO DOMECO) ESTA MARCA SE ELIGIO POR CONSIDERARSE LA DE MAS CONSUMO ENTRE LA POBLACION MEXICANA. SE REALIZO LA DESTILACION A VACIO UTILIZANDO UNA BOMBA HOFFMAN PINTHER MODELO 0211. LA TEMPERATURA DE DESTILACION OSCILO DE 69 a 79 GRADOS CENTIGRADOS. EL PROCESO SE DIO POR TERMINADO CUANDO LA FASE ALCOHOLICA SE SEPARO DE LA FASE ACUOSA, ESTA ULTIMA PORCION SE LIOFILIZO, PARA ELLO SE EMPLEO UNA BOMBA DE VACIO MARCA FELIWECH CON DESPLAZAMIENTO DE 160 lt/minuto DE DOS ETAPAS Y UN COMPRESOR DIVIARTIS DE GARDINIER, N.Y. EN PROMEDIO DE UNA BOTELLA DE 700 ml SE OBTUVIERON  $4.85 \text{ g} \pm 0.35$  DE RESIDUO (6.93 g/lt).

#### 2. PREPARACION DE LAS DOSIS.

LOS RESIDUOS SE DISOLVIERON EN AGUA DESTILADA ESTERIL QUEDANDO AL FINAL DE LA SIGUIENTE MANERA:

PARA EL TRABAJO *in vitro* SE USARON LAS DOSIS 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml y 21 mg/ml ADEMAS DEL TESTIGO NEGATIVO DICHAS DOSIS TUVIERON COMO BASE ENSAYOS PRELIMINARES DE CITOTOXICIDAD Y LOS RESULTADOS OBTENIDOS PREVIAMENTE POR OTROS INVESTIGADORES (17).

PARA EL TRABAJO *in vivo* SE UTILIZARON LAS DOSIS DE 50 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg, 600 mg/kg y 800 mg/kg ADEMÁS DEL TESTIGO NEGATIVO Y EL POSITIVO CON 2 mg/kg DE MITOMICINA C. SE REALIZO UN ENSAYO DE TOXICIDAD EN QUE SE APLICÓ 5 g/kg DE RESIDUO A RATON SIN OBSERVARSE EFECTO TOXICO.

### 3. SISTEMA *in vitro*.

#### a) SIEMBRAS:

PARA EL CULTIVO DE LINFOCITOS SE TOMO UNA MUESTRA DE SANGRE VENOSA TOTAL DE UN DONADOR CLINICAMENTE SANO, SIN ANTECEDENTES DE INFECCIONES VIRALES NI INGESTA DE FARMACOS EN LOS TRES MESES PREVIOS AL ESTUDIO.

SE SEMBRARON DOS FRASCOS DE CULTIVO POR DOSIS. CADA FRASCO DE CULTIVO CONTIENE: 0.5 ml DE SANGRE PERIFERICA, 8 ml DE MEDIO MCCOY 5a MODIFICADO (*IN VITRO*) y 0.5 ml DE FITOHEMAGLUTININA. LOS CULTIVOS SE INCUBARON A 37 GRADOS CENTIGRADOS Y A LAS 24 HRS SE AÑADIERON 45  $\mu$ l DE 5-BROMO-2-DEOXIURIDINA (BrdU) (SIGMA) CON UNA CONCENTRACION DE 4 mg/ml, Y TAMBIEN SE AGREGARON LAS DIFERENTES DOSIS DE RESIDUOS DE BRANDY. SE INCUBARON NUEVAMENTE A 37 GRADOS CENTIGRADOS. A LAS 71 HRS SE AGREGO COLCHICINA (0.02 mg/ml) (SIGMA) Y SE CONTINUO LA INCUBACION UNA HORA MAS.

#### b) COSECHA:

A LAS 72 HAS SE CENTRIFUGARON LOS CULTIVOS 10 MINUTOS A 1500 RPM, A CONTINUACION SE ELIMINO EL SOBRENADANTE Y SE RESUSPENDIO EL PAQUETE CELULAR CON 7 ml DE SOLUCION HIPOTONICA DE KCl 0.075 M A 37 GRADOS CENTIGRADOS.

DESPUES DE 15 MINUTOS, CENTRIFUGAR Y ELIMINAR EL SOBRENADANTE, SE RESUSPENDIO NUEVAMENTE EL PAQUETE CELULAR Y SE AÑADIERON 7 ml DE SOLUCION FIJADORA METANOL-ACIDO ACETICO 3:1, DEJANDOLOS REPOSAR A TEMPERATURA AMBIENTE 15 MINUTOS, LUEGO SE CENTRIFUGO Y SE ELIMINO EL SOBRENADANTE CON EL OBJETO DE HACER OTROS DOS CAMBIOS DE FIJADORA.

c) PREPARACION DE LAMINILLAS:

EN EL TUBO CON SUSPENSION CELULAR SE DEJO UNA CANTIDAD ADECUADA DE FIJADORA, SE RESUSPENDIERON LAS CELULAS Y EN PORTAOBJETOS PREVIAMENTE DESENGRASADOS SE DEJARON CAER TRES GOTAS DE LA SUSPENSION A UNA DISTANCIA DE 20 cm APROXIMADAMENTE. LAS LAMINILLAS SE SECARON AL AIRE Y SE DEJARON MADURAR POR 2 DIAS ANTES DEL SIGUIENTE PASO (31).

d) TINCION:

LAS LAMINILLAS SE TIÑERON CON COLOANTE FLUOROCROMO BISBENZIMIDA HOECHST 33258 (SIGMA) (100 ug/ml) POR 40 MINUTOS. SE LAVARON CON AGUA DE LA LLAVE Y SE SECARON A 60

GRADOS CENTIGRADOS POR 15 MINUTOS. SE COLOCARON EN BUFFER DE CITRATO FOSFATO pH 7.0, LAS LAMINILLAS SE EXPUSIERON A LUZ NEGRA POR 40 MINUTOS, SE LAVARON CON AGUA DE LA LLAVE Y SE SECARON A 60 GRADOS CENTIGRADOS, 15 MINUTOS. A CONTINUACION SE SUMERGIERON EN UNA SOLUCION SALINA DE CITRATOS DURANTE 20 MINUTOS A 60 GRADOS CENTIGRADOS, SE LAVARON Y SECARON 30 MINUTOS A 60 GRADOS CENTIGRADOS. FINALMENTE SE EFECTUO OTRA TINCION CON COLORANTE GIEMSA AL 4% (2 ml DE GIEMSA, 5 ml DE BUFFER DE FOSFATOS pH 6.4 Y 43 ml DE AGUA DESTILADA) POR 15 MINUTOS (32).

e) ANALISIS DE LAMINILLAS:

1. SE CONTARON LOS INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS EN 30 METAFASES DE SEGUNDA DIVISION POR DOSIS.

2. SE DETERMINO LA CINETICA CELULAR CONTANDO EL NUMERO DE METAFASES DE PRIMERA, SEGUNDA Y TERCERA DIVISION EN 100 CELULAS.

3. SE DETERMINO EL INDICE MITOTICO Y LA MORTALIDAD CELULAR EN LAS PRIMERAS 1000 CELULAS.

f) ANALISIS ESTADISTICO:

EL ESTUDIO ESTADISTICO SE EFECTUO MEDIANTE EL ANALISIS DE VARIANZA, LA PRUEBA DE T DE STUDENT, PRUEBA DE TUKEY Y LA PRUEBA DE DUNNETT CON  $p < 0.01$ . PARA LA CINETICA CELULAR SE

EMPLEO LA PRUEBA DE  $\chi^2$ -CUADRADA CON TABLA DE CONTINGENCIA CON  $p < 0.01$ .

SE REALIZO EL CALCULO DE LA REGRESION LINEAL POR EL METODO DE MINIMOS CUADRADOS PARA LAS CUAVAS DE MITODEPRESION VS. DOSIS DE RESIDUOS DE BRANDY E INTERCAMBIO DE CAOMATIDAS HERMANAS VS. DOSIS DE RESIDUOS DE BRANDY (FIGURAS 2, Y 3), (33), (34), (35).

#### 4. SISTEMA *in vivo*.

##### a) IMPLANTACION DE TABLETA DE BrDU:

SE UTILIZARON 5 RATONES DE CEPA NIH POR CADA DOSIS, A LOS QUE SE LES IMPLANTO SUBCUTANEAMENTE UNA TABLETA DE 5BrDU DE 53 mg RECUBIERTA DE PARAFINA EN UN 60-70% (36).

UNA HORA DESPUES SE LES ADMINISTRO INTRAPERITONEALMENTE LAS DOSIS DE CONGENERES DE BRANDY.

##### b) OBTENCION DE LA MEDULA OSEA:

A LAS 22 HORAS RECIBIERON INTRAPERITONEALMENTE 0.4 ml DE COLCHICINA (0.125 mg) (SIGMA). DOS HORAS DESPUES SE SACRIFICARON LOS RATONES POR DISLOCACION CERVICAL, SE EXTRAJO EL FEMUR, SE LIMPIO Y CORTARON LAS EPIFISIS. PARA OBTENER LA MEDULA OSEA SE INTRODUJO CON UNA JERINGA SOLUCION HIPOTONICA DE KCl 0.075M A 37 GRADOS CENTIGRADOS. LA MEDULA OSEA ASI



OBTENIDA SE INCUBO POR 25 MINUTOS, Y DESPUES DE CENTRIFUGAR SE DESECHO EL SOBRENADANTE. LA FIJACION SE HIZO AGREGANDO 7 ml DE UNA SOLUCION FIJADORA METANOL-ACIDO ACETICO 3:1 EN TRES OCASIONES.

c) PREPARACION DE LAMINILLAS:

LOS PORTAOBJETOS SE COLOCARON EN UNA SOLUCION AGUA/ETANOL AL 50%. DESPUES DE QUITAR EL SOBRENADANTE SE RESUSPENDIO EL PAQUETE CELULAR Y SE DEJARON CAER TRES GOTAS SOBRE EL PORTAOBJETOS, A UNA DISTANCIA DE 20 cm APROXIMADAMENTE, FLAMEANDO LA LAMINILLA RAPIDAMENTE.

d) y e) TINCION Y ANALISIS DE LAMINILLAS:

EL PROCEDIMIENTO EN AMBOS CASOS FUE SIMILAR AL DESCRITO PREVIAMENTE EN EL SISTEMA *in vitro*.

f) ANALISIS ESTADISTICO:

EL ESTUDIO ESTADISTICO PARA LA FRECUENCIA DE INTERCAMBIO DE CADMATIDAS HERMANAS SE EFECTUO MEDIANTE EL ANALISIS DE VARIANZA, LA PRUEBA DE T DE STUDENT, PRUEBA DE TUKEY Y LA PRUEBA DE DUNNETT CON  $p < 0.05$  Y  $p < 0.01$ . PARA LA CINETICA CELULAR SE USO LA PRUEBA DE  $\chi^2$ - CUADRADA CON TABLA DE CONTINGENCIA CON  $p < 0.01$ .

## IV. RESULTADOS.

## 1. ESTUDIO IN VITRO.

## a) MITODEPRESION:

LOS RESIDUOS DEL BRANDY OCASIONARON UNA INHIBICION MITOTICA CONSTANTE, DE TAL FORMA QUE CON LA DOSIS INICIAL FUE DE 10.6% Y CON LA MAS ALTA DEL 71.2%. LA MITODEPRESION AL 50% SE OBTENDRIA CON 13.7 mg/ml (FIGURA 2)

## b) INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS:

SE HIZO ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA) PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN ICH, CALCULANDOSE UNA  $F = 16.86$  QUE SE COMPARO CON EL VALOR DE TABLAS  $F = 2.37$  PARA  $p < 0.05$  Y  $F = 3.32$  PARA  $p < 0.01$  SIENDO SIGNIFICATIVO EN AMBOS CASOS.

POSTERIORMENTE SE APLICARON LAS PRUEBAS T DE STUDENT, LA PRUEBA DE TUKEY Y LA PRUEBA DE DUNNETT, CON LOS SIGUIENTES RESULTADOS:

DMS=2.3926, DMT=3.0211, DMD=2.5728 CON  $p < 0.01$ .

ESTOS VALORES SE COMPARRARON CON LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DIFERENCIA DE MEDIAS (TABLA 6).

LA FRECUENCIA DE INTERCAMBIOS ENTRE EL TESTIGO NEGATIVO Y LAS DOSIS 5 mg/ml Y 10 mg/ml FUE MUY PARECIDA, PERO CON LAS DOSIS 15 mg/ml Y 21 mg/ml SE OBSERVO UN INCREMENTO QUE ES

ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO CON T-STUDENT, PRUEBA DE TUKEY Y PRUEBA DE DUNNETT ( $p < 0.01$ ). HAY UNA DIFERENCIA DE 6.1 ICH ENTRE EL NUMERO BASAL DE INTERCAMBIOS Y LA DOSIS MAS ALTA. (TABLA 4 Y 10), (FIGURA 3).

c) CINETICA CELULAR:

NUEVAMENTE SE OBSERVA QUE EN LAS PRIMERAS DOSIS NO HAY EFECTO DE LOS CONGENERES DE BRANDY SOBRE LA PROLIFERACION CELULAR, SOLO EN LAS DOS ULTIMAS DOSIS SE OBSERVA UN EFECTO INHIBITORIO QUE SE PONE DE MANIFIESTO COMO UNA DISMINUCION DEL INDICE DE REPLICACION QUE ES ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO (TABLA 5), (FIGURA 4,5,6).

2. ESTUDIO IN VIVO

a) INDICE MITOTICO:

LOS RESULTADOS MUESTRAN QUE LOS RESIDUOS DE BRANDY NO AFECTAN EL INDICE MITOTICO EN NINGUNA DE LAS DOSIS.

b) INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS:

SE HIZO ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA) PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN ICH, SE CALCULO UNA  $F = 146.8334$  QUE SE COMPARO CON EL VALOR DE TABLAS  $F = 2.46$  PARA  $p < 0.05$  Y  $3.56$

PARA  $p < 0.01$  SIENDO SIGNIFICATIVO EN AMBOS CASOS.

POSTERIOREMENTE SE APLICARON LAS PRUEBAS T DE STUDENT, LA PRUEBA DE TUKEY Y LA PRUEBA DE DUNNETT, DANDO LOS SIGUIENTES RESULTADOS:

DMS=1.073, DMT=1.4791, DMD=1.2054 CON  $p < 0.01$ .

DMS=0.7978, DMT=1.2216, DMD=0.9295 CON  $p < 0.05$ .

ESTOS VALORES SE VAN A COMPARAR CON LOS OBTENIDOS EN LA DIFERENCIA DE MEDIAS (TABLA 9)

EL ANALISIS ESTADISTICO CON T DE STUDENT MUESTRA QUE CON  $p < 0.05$  LA FRECUENCIA DE ICH ES ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA A PARTIR DE LA DOSIS DE 200 mg/kg. EN CAMBIO CON UNA  $p < 0.01$ , LA SIGNIFICANCIA SE OBSERVA A PARTIR DE LA DOSIS SIGUIENTE QUE ES DE 400 mg/kg, A PARTIR DE ESTA DOSIS NO SE OBSERVO CAMBIO EN LA FRECUENCIA DE ICH. CON LA PRUEBA DE TUKEY A PARTIR DE LA DOSIS DE 400 mg/kg SE CONSIDERA QUE HAY AUMENTO ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO CON  $p < 0.05$ , CON  $p < 0.01$  SE ENCONTRO SIGNIFICANCIA EN LAS DOSIS DE 400 mg/kg Y CON MMC. CON LA PRUEBA DE DUNNETT EL RESULTADO FUE EL MISMO QUE CON t DE STUDENT. EL TESTIGO POSITIVO MUESTRA UN INCREMENTO DE CUATRO VECES LA FRECUENCIA DE ICH EN COMPARACION CON EL TESTIGO NEGATIVO (TABLA 7 Y 10), (FIGURA 5).

#### c) CINETICA CELULAR:

SE OBSERVA QUE EL NUMERO DE METAFASES EN SEGUNDA

DIVISION TANTO EN EL TESTIGO NEGATIVO COMO EN LAS DOSIS ES MAS ALTO QUE LA FRECUENCIA DE LAS PRIMEAS DIVISIONES. EN CAMBIO EN EL TESTIGO POSITIVO LA SITUACION ES AL CONTRARIO. ESTAS OBSERVACIONES SE REFLEJAN EN EL INDICE DE REPLICACION QUE ES SIMILAR EN TODOS LOS CASOS A EXCEPCION DE LA MITOMICINA C, QUE MUESTRA UNA CLARA DEPRESION, QUE ES ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA. EL TIEMPO PROMEDIO DE GENERACION TAMBIEN PERMANECE SIN MUCHA VARIACION EN CADA UNA DE LAS DOSIS, SOLO CON MITOMICINA C EL TIEMPO PROMEDIO DE GENERACION SE VE MUY AUMENTADO (TABLA 8), (FIGURA 7, 8, 9).

TABLA 4. FRECUENCIAS DEL INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS PRODUCIDAS POR LOS RESIDUOS DEL BRANDY IN VITRO. CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS.

DOSIS mg/ml	METAFASES	RANGO	MEDIA+	E. E. -	SIGNIFICANCIA**		
					DMS 1%	DMT 1%	DMD 1%
0	30	5-14	9.2	0.53			
5	30	3-16	10.3	0.6	-	-	-
10	30	4-15	10.2	0.57	-	-	-
15	30	9-27	14.1	0.76	+	+	+
21	30	9-24	15.3	0.77	+	+	+

E. E.= ERROR ESTANDAR.

\*\* MUY SIGNIFICATIVO ESTADISTICAMENTE.

DMS= t-STUDENT.

DMT= PRUEBA DE TUKEY.

DMD= PRUEBA DE DUNNET.

TABLA 5. CINETICA DE LA PROLIFERACION CELULAR DESPUES DE TRATAMIENTO CON RESIDUOS DE BRANDY IN VITRO. CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS.

\* ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO CON  $p < 0.01$  (Ji-cuadrada). TABLA DE CONTINGENCIA.

DOSIS mg/ml	DIVISION CELULAR %			I. A.
	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	
0	42	40	18	1.76
5	37	56	7	1.7
10	35	51	14	1.79
15	43*	54*	3*	1.6
21	51*	45*	4*	1.53

I. A. = INDICE DE REPLICACION

$I. A. = \%m1x1 + \%m2x2 + \%m3x3 / 100$

m1 = METAFASES DE PRIMERA GENERACION.

m2 = METAFASES DE SEGUNDA GENERACION.

m3 = METAFASES DE TERCERA GENERACION.

TABLA 6. PRUEBA DE TUKEY, T-STUDENT Y DUNNETT.  
CULTIVO DE LINFOCITOS.

DMT= 3.0211, DMS= 2.3926, DMD= 2.5728 CON  $p < 0.01$ .

LA DIFERENCIA DE 2 MEDIAS QUE EXCEDA A ESTOS  
VALORES SE CONSIDERAAA ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO.

COMPARACION mg/ml	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA		
		DMT	DMD	DMS
21-15	1.2	N.S.	N.S.	N.S.
21-5	5.0	**	**	**
21-10	5.1	**	**	**
21-0	6.1	**	**	**
15-5	3.8	**	**	**
15-10	3.9	**	**	**
15-0	4.9	**	**	**
5-10	0.1	N.S.	N.S.	N.S.
5-0	1.1.	N.S.	N.S.	N.S.
10.0	1.0	N.S.	N.S.	N.S.

N.S. = NO SIGNIFICATIVO.

\*\* MUY SIGNIFICATIVO.

DMS= t-STUDENT.

DMT= PRUEBA DE TUKEY.

DMD= PRUEBA DE DUNNETT.



TABLA 7. FRECUENCIAS DEL INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS EN CELULAS DE MEDULA OSEA DE RATONES TRATADOS CON RESIDUOS DEL BRANDY.

DOSIS mg/kg	METAFASES	ANIMALES	RANGO	MEDIA ± E. E.	SIGNIFICANCIA*	DMS DMT DMD									
						5%	1%	5%	1%	5%	1%				
0	150	5	1-12	3.9	0.33										
50	150	5	0-8	3.3	0.31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200	150	5	1-12	4.9	0.37	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
400	150	5	2-12	5.4	0.34	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
600	120	4	2-12	5.4	0.33	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
800	150	5	3-13	5.4	0.30	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
MMC 2 mg/kg	150	5	5-27	13.2	0.78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

E. E. = ERROR ESTANDAR.

\* ESTADISTICAMENTE.

MMC = MITOMICINA C.

DMS = t-STUDENT.

DMT = PRUEBA DE TUKEY.

DMD = PRUEBA DE DUNNETT.

TABLA 8. CINÉTICA DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR EN CELULAS DE MEDULA OSEA DE RATONES TRATADOS CON RESIDUOS DEL BRANDY.

\* ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVO  $p < 0.01$  (Ji-cuadrado).  
TABLA DE CONTINGENCIA.

DOSIS mg/kg	DIVISION CELULAR			I.A.	TGP (Hrs)
	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA		
0	31.4	67.6	1.0	1.7	14.1
50	31.8	67.8	0.4	1.7	14.1
200	21.2	74.8	4.0	1.83	13.1
400	32.2	63.4	4.4	1.72	14.35
600	27.2	71.4	1.4	1.74	14.19
800	26.0	68.4	5.6	1.8	13.3
MMC 2mg/kg	77.8*	22.2*	0*	1.2	20.0

I.A. = INDICE DE REPLICACION

$I.A. = \%m1x1 + \%m2x2 + \%m3x3 / 100$

M1 = METAFASES DE PRIMERA GENERACION

M2 = METAFASES DE SEGUNDA GENERACION

M3 = METAFASES DE TERCERA GENERACION

T.G.P. = TIEMPO DE GENERACION PROMEDIO.

$T.G.P. = No. HAS DE BrDU / (1(m1) + 2(m2) + 3(m3)) x 100.$

TABLA 9. PRUEBA DE TUKEY, T-STUDENT Y DUNNETT.  
EN CELULAS DE MÉDULA OSEA DE RATON.

DMT=1.4791, DMS=1.073, DMD=1.2045 CON  $p < 0.01$   
DMT=1.2216, DMS=0.7978, DMD=0.9295 CON  $p < 0.05$   
LA DIFERENCIA DE 2 MEDIAS QUE EXCEDA A ESTE VALOR  
SE CONSIDERARA ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA.

COMPARACION mq/kg	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA					
		DMS		DMT		DMD	
		5%	1%	5%	1%	5%	1%
MMC-400	7.8	**	**	**	**	**	**
MMC-800	7.88	**	**	**	**	**	**
MMC-600	7.9	**	**	**	**	**	**
MMC-200	8.32	**	**	**	**	**	**
MMC-0	9.31	**	**	**	**	**	**
MMC-50	9.91	**	**	**	**	**	**
400-800	0.06	N.S.		N.S.		N.S.	
400-600	0.08	N.S.		N.S.		N.S.	
400-200	0.5	N.S.		N.S.		N.S.	
400-0	1.49	*	*	*	*	*	*
400-50	2.09	*	*	*	*	*	*
800-600	0.02	N.S.		N.S.		N.S.	
800-200	0.44	N.S.		N.S.		N.S.	
800-0	1.43	*	*	* N.S.	*	*	*
800-50	2.03	*	*	*	*	*	*
600-200	0.42	N.S.		N.S.		N.S.	
600-0	1.41	*	*	* N.S.	*	*	*
600-50	2.01	*	*	*	*	*	*
200-0	0.99	* N.S.	*	N.S.	*	N.S.	*
200-50	1.59	*	*	*	*	*	*
0-50	0.6	N.S.		N.S.		N.S.	

\*\* MUY SIGNIFICATIVO.  
\* SIGNIFICATIVO.  
N.S. = NO SIGNIFICATIVO.  
MMC = MITOMICINA C, 2 mg/kg.

TABLA 10. REPRESENTACION DE LOS RESULTADOS CON PRUEBA T-STUDENT, PRUEBA DE TUKEY Y PRUEBA DE DUNNETT.

PRUEBA T-STUDENT, PRUEBA DE TUKEY Y PRUEBA DE DUNNETT.

SISTEMA *in vitro*.

TRATAMIENTO  $\bar{x}$   
1%

E		15.3
D		14.1
B		10.3
C		10.2
A		9.2

A= TESTIGO NEGATIVO, B= 5 mg/ml, C= 10 mg/ml, D= 15 mg/ml, E= 21 mg/ml.

SISTEMA *in vivo*.

T-STUDENT			TUKEY			DUNNETT		
TRATAMIENTO		$\bar{x}$	TRATAMIENTO		$\bar{x}$	TRATAMIENTO		$\bar{x}$
1%	5%		1%	5%		1%	5%	
G	G	13.24	G	G	13.24	G	G	13.24
D	D	5.42	D	D	5.42	D	D	5.42
F	F	5.36	F	F	5.36	F	F	5.36
E	E	5.34	E	E	5.34	E	E	5.34
C	C	4.92	C	C	4.92	C	C	4.92
A	A	3.93	A	A	3.93	A	A	3.93
B	B	3.33	B	B	3.33	B	B	3.33

A= TESTIGO NEGATIVO, B= 50 mg/kg, C= 200 mg/kg, D= 400 mg/kg, E= 600 mg/kg, F= 800 mg/kg, G= MITOMICINA C.

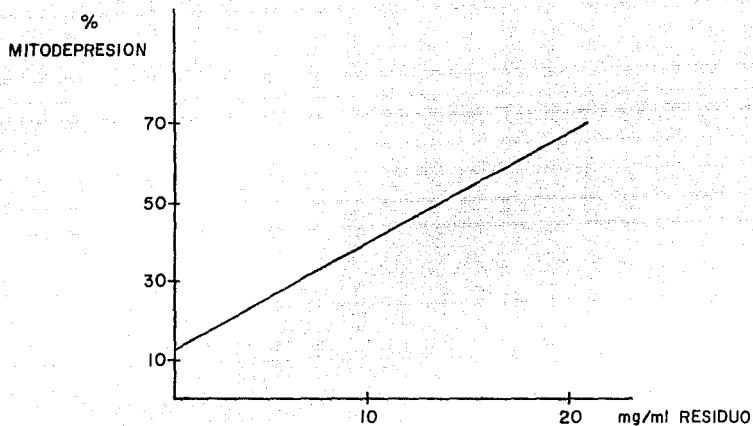


Figura 2.- MITODEPRESION OBTENIDA CON 4 DOSIS DE RESIDUOS DEL BRANDY. CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS. COEFICIENTE DE CORRELACION: 0.914  
 $y = 2.9x + 10.55$

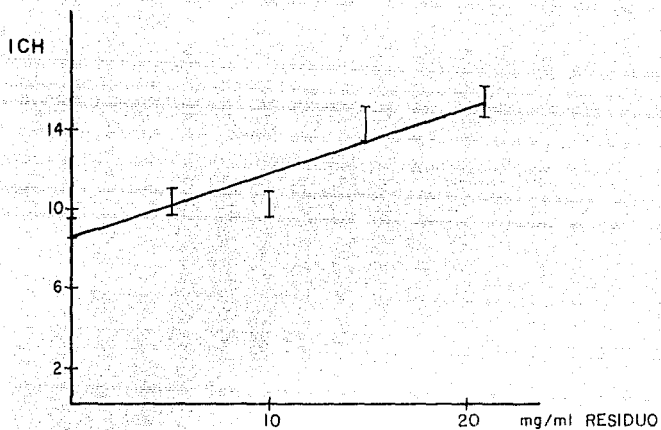


Figura 3.- EFECTO DE LOS RESIDUOS DEL BRANDY  
EN LA FRECUENCIA DE INTERCAMBIO DE  
CROMATIDAS HERMANAS  
CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS  
COEFICIENTE DE CORRELACION: 0.94  
 $y = 0.31x + 8.68$



FIGURA 4. METAFASE DE PRIMERA DIVISION DE LINFOCITOS HUMANOS.



**FIGURA 5. METAFASE DE SEGUNDA DIVISION DE LINFOCITOS HUMANOS.**



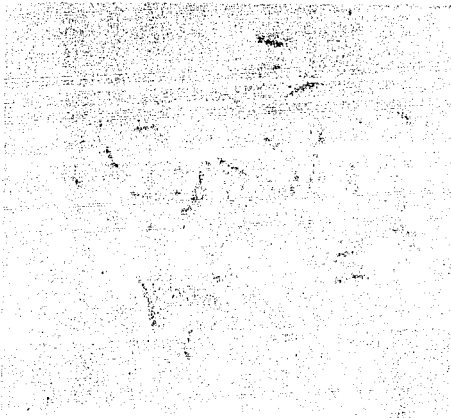


FIGURA 3. METAFASE DE TERCERA DIVISION DE LINFOCITOS HUMANOS.

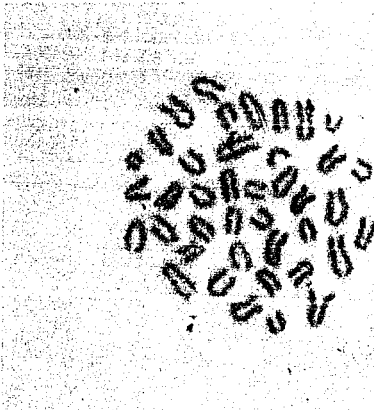


FIGURA 7. METAFASE DE PRIMERA DIVISION DE MEDULA OSEA DE RATON.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

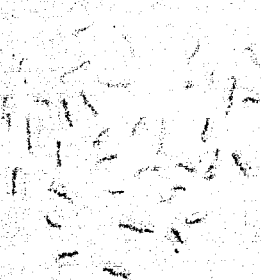


FIGURA 8. METAFASE DE SEGUNDA DIVISION DE MEDULA OSEA DE RATON.

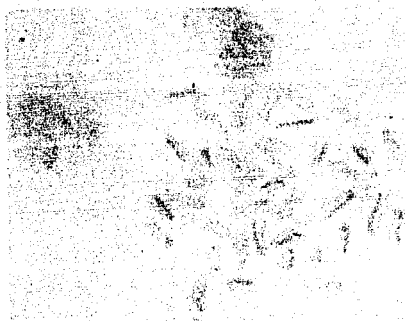


FIGURA 9. METAFASE DE TERCERA DIVISION DE MEDULA OSEA DE RATON.

## V. DISCUSION.

EL ETANOL SE CONSUME EN FORMA DE BEBIDAS ALCOHOLICAS, LAS CUALES APARTE DE DICHO COMPONENTE Y AGUA CONTIENEN UNA ENORME VARIEDAD DE COMPUESTOS QUE SON RESPONSABLES DEL AROMA Y SABOR DE LAS BEBIDAS. NYHÄNEN Y SUOMALAINEN (37) ENCONTRARON 1300 COMPUESTOS QUE SON RESPONSABLES DEL AROMA EN BEBIDAS ALCOHOLICAS, ENTRE ELLOS DIFERENTES TIPOS DE ALCOHOLES, ACETALDEHIDO, ACOLEINA, N-NITROSODIMETILNITROSAMINA (NDMA), N-NITROSODIETILAMINA (NDEA), TANINOS, BENCENO, TOLUENO, ESTIRENO Y BENZO(a)PIRENO. TUUNS Y GRICUTE (38) ANALIZARON LOS CONTENIDOS DE NITROSAMINA DE BEBIDAS ALCOHOLICAS FUERTES Y ENCONTRARON NDMA, NDEA Y NITroso-DIPROPILAMINA (NDPA) EN CANTIDADES DE  $\mu\text{g/l}$  TAMBIEN SE HA ENCONTRADO ETIL CARBAMATO EN BEBIDAS ALCOHOLICAS (39). CONVIENE RECORDAR QUE EN ALGUNAS DE ESTAS SUSTANCIAS SE HA ENCONTRADO UN DETERMINADO POTENCIAL MUTAGENO-CARCINOGENICO.

SE HA ENCONTRADO QUE EVAPORADOS DE BEBIDAS ALCOHOLICAS FUERTES INDUCEN MUTACIONES EN BACTERIAS E INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS EN LINFOCITOS PERIFERICOS HUMANOS (TABLA 11). EN GENERAL LOS EVAPORADOS FUERON MUTAGENICOS SIN LA ADICION DE UN SISTEMA METABOLICO EXOGENO, SUGIRIENDO QUE CONTIENEN MUTAGENOS DE ACCION DIRECTA (40).

LOS INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS SON INDICADORES SENSIBLES PARA DETECTAR DAÑO EN EL DNA POR COMPUESTOS

TABLA 11. ACTIVIDAD MUTAGENICA DE EVAPORADOS DE BEBIDAS ALCOHOLICAS(40).

BEBIDA (NUMERO)	CONCENTRACION DEL EVAPORADO	ORGANISMO Y TIPO DE PRUEBA	RESULTADO	REFERENCIAS
WHISKY JAPONES(6)	ARRIBA DE 14.4 mg	Salmonella typhimurium TA100 CON Y SIN S9.	MUTAGENICO SIN S9.	(15)
WHISKY ESCOCES(4)	ARRIBA DE 41.1 mg		MUTAGENICO SIN S9, A EXCEPCION DE UN WHISKY DE MALTA.	
WHISKY AMERICANO(2)	ARRIBA DE 18.4 mg.		MUTAGENICO SIN S9.	
WHISKY CANADIENSE(1)	ARRIBA DE 12.7 mg.		MUTAGENICO SIN S9.	
WHISKY FRANCES(5)	ARRIBA DE 124.8 mg.		MUTAGENICO SIN S9.	
BRANDY FRANCES DE MANZANA NO COMERCIAL. (30)	200 ul DE FRACCION NO VOLATIL.	Salmonella typhimurium TA98, TA100, CON Y SIN S9.	2 MUTAGENICAS CON S9.	(17)
BRANDY FRANCES NO COMERCIAL (18)			NO MUTAGENICO.	
WHISKY(8)			NO MUTAGENICO.	
COGNAC (8)			NO MUTAGENICO.	
ARMANAC (4)			NO MUTAGENICO.	
RON (8)			NO MUTAGENICO.	
WHISKY BOURBON (1)	5-300 g/ml	LINFOCITOS HUMANOS SIN S9.	AUMENTO DE ICH	(12)
WHISKY ESCOCES (1)	5-300 g/ml		AUMENTO DE ICH.	
RON (1)	1000-4000 g/ml		AUMENTO DE ICH.	
BRANDY (1)	1000-12000g/ml		AUMENTO DE ICH.	
VINO TINTO CANADIENSE (1)	ARRIBA DE 0.1 ml	Salmonella typhimurium TA100 y TA98 CON Y SIN S9.	MUTAGENICO	(31)
CERVEZA CANADIENSE(1)			NO MUTAGENICO.	
VINO BLANCO CANADIENSE (1)			NO MUTAGENICO.	
WHISKY CANADIENSE (1)			NO MUTAGENICO.	
GINEBRA CANADIENSE (1)			NO MUTAGENICO.	

GENOTOXICOS, POR ESTA CARACTERISTICA SE ELIGIERON PARA DETERMINAR EL EFECTO MUTAGENICO DEL BRANDY SOBRE LOS SISTEMAS *in vivo* e *in vitro* UTILIZADOS. AUNQUE NO SE CONOCE SI EL EVENTO DE ICH ENVUELVE POR SI MISMO MUTACION, ESTUDIOS PREVIOS REALIZADOS POR WOLFF (38) PARA 6 COMPUESTOS QUIMICOS, DEMOSTRARON UNA RELACION LINEAL ENTRE LA INDUCCION DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS Y MUTACION EN EL LOCUS DE HIPOXANTINA FOSFORIBOSILTRANSFERASA (hprt) EN CELULAS DE OVARIO DE HAMSTER CHINO (CHO).

PARA UBICAR NUESTROS RESULTADOS ES CONVENIENTE COMPARARLOS CON LOS OBTENIDOS PREVIAMENTE POR OTROS AUTORES.

LOS ESTUDIOS PREVIOS QUE SE REFIEREN AL RESIDUO DE BRANDY SE HAN HECHO UNICAMENTE CON BACTERIAS Y CON LINFOCITOS HUMANOS TRATADOS *in vitro*, NO EXISTEN DATOS SOBRE EL EFECTO *in vivo*.

EN NUESTRO ENSAYO TANTO *in vitro* COMO *in vivo* SE ENCONTRO UN AUMENTO DE LA FRECUENCIA DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS QUE FUE ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO.

POR LO QUE SE REFIERE A LINFOCITOS HUMANOS, HOEFT Y OBE (15) OBTUVIERON UNA FRECUENCIA PROMEDIO DE 10 ICH CON 6000  $\mu\text{g/ml}$  Y DE 13 CON 12 000  $\mu\text{g/ml}$ , MIENTRAS QUE EN NUESTRO ENSAYO LOS RESULTADOS FUERON 10.3 ICH CON 5  $\text{mg/ml}$  Y 14.1 CON 15  $\text{mg/ml}$ . LA DOSIS MAXIMA QUE ELLOS UTILIZARON FUE DE 12000  $\mu\text{g/ml}$  Y CON ELLA SE DUPLICÓ LA FRECUENCIA BASAL DE ICH, EN CAMBIO NOSOTROS USAMOS UNA DOSIS MAXIMA DE 21  $\text{mg/ml}$  Y OBTUVIMOS 2/3 DE INCREMENTO CON RESPECTO A LA FRECUENCIA

BASAL DE ICH.

RESPECTO A LOS INDICES MITOTICOS, HOEFT Y OBE LOS OBSERVARON BAJOS EN LAS DOSIS MAS ALTAS, LO CUAL COINCIDE CON NUESTROS RESULTADOS. EN RELACION A LA CINETICA CELULAR, EN LAS 2 ULTIMAS DOSIS SE OBSERVO UNA DISMINUCION DEL INDICE REPLICATIVO QUE ES ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO.

EL ANALISIS DE ESTOS DATOS CONFIRMA EL POTENCIAL MUTAGENICO DE LOS RESIDUOS ESTUDIADOS, LAS DIFERENCIAS CUANTITATIVAS SON ATRIBUIBLES A VARIACIONES INHERENTES AL TIPO DE BEBIDA Y AL PROCEDIMIENTO EMPLEADO.

EN NUESTRO TRABAJO LOS CONGENERES DE BRANDY SE DISOLVIERON CON AGUA DESTILADA ESTERIL, MIENTRAS QUE EN EL EXPERIMENTO QUE COMENTAMOS LOS RESIDUOS SE DISOLVIERON EN DIMETILSULFOXIDO, LO CUAL PODRIA INFLUIR EN EL NUMERO DE INTERCAMBIOS OBSERVADOS.

NAGAO Y COLABORADORES DETERMINARON QUE LOS RESIDUOS DE WHISKY, BRANDY Y BRANDY DE MANZANA TIENEN CAPACIDAD MUTAGENICA EN *Salmonella thuphimurium* TA100 Y TA98, SIN NECESIDAD DE DEGRADACION METABOLICA (21).

ESTA INFORMACION OBTENIDA EN MICROORGANISMOS NUEVAMENTE COINCIDE CON NUESTROS EXPERIMENTOS EN LINFOCITOS *in vitro* Y ESTABLECE QUE EL DAÑO GENOTOXICO SE PRESENTA EN DISTINTOS SISTEMAS DE PRUEBA QUE MIDEN TANTO ALTERACIONES GENICAS COMO CROMOSOMICAS.

POR LO QUE SE REFIERE AL ESTUDIO *in vivo*, ESTE SISTEMA TIENE LA VENTAJA DE QUE PODEMOS OBSERVAR EL EFECTO DIRECTO O



INDIRECTO DEL MUTAGENO POTENCIAL, AL HACERLO EN UN MAMIFERO TENEMOS UNA IDEA APROXIMADA DE LO QUE PUEDE ACONTECER EN EL HUMANO.

CON RESPECTO AL EFECTO DE RESIDUOS DE BRANDY *in vivo*, NO SE ENCONTRARON ANTECEDENTES DE UN ENSAYO SIMILAR, NUESTROS RESULTADOS INDICARON UN EFECTO MUTAGENICO MODERADO, PUES HUBO UN INCREMENTO ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS Y SE MANTUVO CONSTANTE EN LAS 3 ULTIMAS DOSIS USADAS, POR ESTO SERIA CONVENIENTE SABER SI DOSIS MAS ALTAS MODIFICAN EL EFECTO OBSERVADO. LA CINETICA CELULAR AL IGUAL QUE EL INDICE MITOTICO NO SE VIO AFECTADO POR LOS RESIDUOS.

UNA EXPLICACION DE ESTO PODRIA SER QUE LOS RESIDUOS DE BRANDY CONTIENEN GRAN CANTIDAD DE AZUCAR, DE ESTA FORMA LA CANTIDAD REAL DE RESIDUOS GENOTOXICOS SE VE DISMINUIDA, POR ESTA RAZON SE NECESITAN ALTAS CONCENTRACIONES DEL RESIDUO PARA LLEGAR A OBSERVAR DAÑO GENETICO.

LA MUTAGENICIDAD DE LOS RESIDUOS DE BRANDY FUE MAYOR EN EL SISTEMA *in vitro*, ESTO PUEDE RELACIONARSE CON LO ENCONTRADO POR NAGAO Y COL. EN *Salmonella typhimurium* TA98 Y TA100 EN QUE LA ADICION DE MEZCLA SE REDUJO O ANULO LA ACTIVIDAD MUTAGENICA DE LOS RESIDUOS. NAGAO Y COL. MENCIONAN QUE LA MEZCLA SE PUEDE INACTIVAR METABOLICAMENTE A LOS MUTAGENOS DEL BRANDY (21).

COMO SE HA MENCIONADO ANTERIORMENTE LOS RESIDUOS DEL BRANDY CONTIENEN DIVERSOS TIPOS DE METALES, Pb, As, Fe, Co,

Zn (19). SERIA IMPORTANTE CONOCER LA CANTIDAD DE ESTOS METALES Y DE ALGUN OTRO EN EL RESIDUO OBTENIDO. EN LA NORMA OFICIAL MEXICANA (43) SE DAN LOS LIMITES MAXIMOS DE DIVERSOS METALES QUE PUEDE CONTENER EL BRANDY:

PLOMO 0.5 mg/dm<sup>3</sup>

ARSENICO 1.5 mg/dm<sup>3</sup>

COBRE 1.0 mg/dm<sup>3</sup>

ZINC 15.0 mg/dm<sup>3</sup>

EL EXCEDER ESTOS LIMITES PUEDE PROVOCAR SERIOS DAÑOS A LA SALUD, PUES A PESAR DE SER CANTIDADES PEQUEÑAS, LA INGESTION CRONICA PUEDE CAUSAR SU ACUMULACION.

TAMBIEN SE HAN ENCONTRADO DIVERSOS TIPOS DE NITROSAMINAS. SE HA VISTO QUE EL ETANOL CAMBIA LA FARMACOCINETICA DE LAS NITROSAMINAS EN RATAS DISMINUYENDO LA CAPACIDAD DEL HIGADO PARA METABOLIZARLAS. SE PROPONE QUE LA INFLUENCIA DEL ALCOHOL EN EL CANCER HUMANO ESTA MEDIADA POR SU EFECTO EN EL METABOLISMO Y DISTRIBUCION DE LAS NITROSAMINAS DE LA DIETA, EL HUMO DE TABACO Y DE LA SINTESIS ENDOGENA (44).

MUCHOS MUTAGENOS MUESTRAN CARCINOGENICIDAD. AUNQUE LOS MUTAGENOS EN WHISKY Y BRANDY FUERON INACTIVADOS POR MEZCLA SE PUEDE SER CAPACES DE INDUCIR CANCER EN ANIMALES. SI ES ASI PODRIAN SER ANALOGOS DE N-METIL-N'-NITRO-N-NITROSOGUANIDINA, UN MUTAGENO DIRECTO QUE PIERDE SU MUTAGENICIDAD HACIA TRIOO CON ADICION DE MEZCLA SE (21).

EL SER HUMANO NECESITARIA TOMAR GRANDES CANTIDADES DE LA

BEBIDA ALCOHOLICA PARA EN UN MOMENTO PONER AL ORGANISMO EN CONTACTO CON DOSIS DE RESIDUOS EQUIVALENTES A LAS DE LOS SISTEMAS *in vivo* e *in vitro* UTILIZADOS EN ESTE TRABAJO, PERO LA ACUMULACION DE LOS RESIDUOS PUEDE A LA LARGA DAÑAR AL ORGANISMO SI LAS BEBIDAS ALCOHOLICAS SE CONSUMEN EN FORMA CRONICA.

LOS RESULTADOS DE AMBOS SISTEMAS SUGIEREN QUE LOS COMPUESTOS GENOTOXICOS DEL RESIDUO TIENEN UNA ACCION DIRECTA SOBRE EL ADN.

## CONCLUSIONES.

1. LOS RESIDUOS DE BRANDY PRODUCEN INCREMENTO EN LA FRECUENCIA DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS EN CELULAS DE MEDULA OSEA DE RATON.
2. LOS RESIDUOS DE BRANDY PRODUCEN INCREMENTO EN LA FRECUENCIA DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS EN CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS.
3. SE OBSERVO UN EFECTO TOXICO DE LOS RESIDUOS DE BRANDY SOBRE LA CINETICA CELULAR EN EL SISTEMA *in vitro*.
4. LOS RESIDUOS DE BRANDY INDUJERON UNA MITODEPRESION EN EL SISTEMA *in vitro*.
5. EL EFECTO TOXICO DE LOS RESIDUOS DE BRANDY SE OBSERVO MAS CLARAMENTE EN EL SISTEMA *in vitro*, DEBIDO QUIZA A QUE SE TRATA DE MUTAGENOS DE ACCION DIRECTA.
6. LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL SISTEMA *in vitro* Y EN EL SISTEMA *in vivo* INDICAN QUE LOS RESIDUOS DE BRANDY SON GENOTOXICOS.

ADN	ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO.
ATP	TRIFOSFATO DE ADENOSINA.
BrdU	5-BROMO-2-DESOXIUADINA.
CHO	OVARIO DE HAMSTER CHINO.
DMD	DIFERENCIA MINIMA DE DUNNETT, PRUEBA DE DUNNETT.
DMS	DIFERENCIA MINIMA SIGNIFICATIVA, PRUEBA T-STUDENT.
DMSH	DIFERENCIA MINIMA SIGNIFICATIVA HONESTA, PRUEBA DE TUKEY.
G6P	GLUCOSA-6-FOSFATO.
hprt	HIPOXANTINA FOSFORIBOSILTRANSFERASA.
H3tdr	TIMIDINA TRITIADA.
ICH	INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS.
IA	INDICE DE REPLICACION.
MMC	MITOMICINA C.
NADH	NICOTINAMIDA-ADENIN-DINUCLEOTIDO (NUCLEOTIDO DIFOSFOPIRIDINICO) EN SU FORMA REDUCIDA.
NADPH	FOSFATO DE NICOTINAMIDA-ADENIN-DINUCLEOTIDO (TRIFOSFOPIRIDIN-NUCLEOTIDO) EN SU FORMA REDUCIDA.
NDEA	N-NITROSODIETILAMINA.
NDMA	N-NITROSODIMETILNITROSAMINA.
NDPA	NITROSO-DIPROPILAMINA.
S9	FRACCION SOBRENADANTE QUE RESULTA DE CENTRIFUGAR A 9000 g EL HOMOGENADO DE HIGADO DE RATA, OBTENIENDO ASI LA FRACCION MICROSOMAL CON ACCION ENZIMATICA.
TGP	TIEMPO DE GENERACION PROMEDIO.

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

	PAGINA
TABLA 1. EFECTO DEL ALCOHOL SOBRE EL SISTEMA NEAVIOSO.	4
TABLA 2. HALLAZGOS FRECUENTES EN EL SINDROME FETAL ALCOHOLICO.	7
TABLA 3. ANORMALIDADES ASOCIADAS EN EL SINDROME FETAL ALCOHOLICO.	8
TABLA 4. FRECUENCIAS DEL INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS PRODUCIDAS POR LOS RESIDUOS DEL BRANDY <i>in vitro</i> . CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS.	26
TABLA 5. CINETICA DE LA PROLIFERACION CELULAR DESPUES DE TRATAMIENTO CON RESIDUOS DEL BRANDY <i>in vitro</i> . CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS.	27
TABLA 6. PRUEBA DE TUKEY, T-STUDENT Y DUNNETT. CULTIVO DE LINFOCITOS.	28
TABLA 7. FRECUENCIAS DEL INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS EN CELULAS DE MEDULA OSEA DE RATONES TRATADOS CON RESIDUOS DEL BRANDY.	29
TABLA 8. CINETICA DE LA PROLIFERACION CELULAR EN CELULAS DE MEDULA OSEA DE RATONES TRATADOS CON	

RESIDUOS DEL BRANDY.	30
TABLA 9. PRUEBA DE TUKEY, T-STUDENT Y DUNNETT. EN CELULAS DE MEDULA OSEA DE RATON.	31
TABLA 10. REPRESENTACION DE LOS RESULTADOS CON PRUEBA T-STUDENT, PRUEBA DE TUKEY Y PRUEBA DE DUNNETT.	32
TABLA 11. ACTIVIDAD MUTAGENICA DE EVAPORADOS DE BEBIDAS ALCOHOLICAS.	42
FIGURA 1. ESQUEMA DE INCORPORACION DE LA BrDU A LOS CROMOSOMAS.	12
FIGURA 2. MITODEPRESION OBTENIDA CON 4 DOSIS DE RESIDUOS DEL BRANDY. CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS.	33
FIGURA 3. EFECTO DE LOS RESIDUOS DEL BRANDY EN LA FRECUENCIA DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS. CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS.	34
FIGURA 4. METAFASE DE PRIMERA DIVISION DE LINFOCITOS HUMANOS.	35
FIGURA 5. METAFASE DE SEGUNDA DIVISION DE LINFOCITOS HUMANOS.	36
FIGURA 6. METAFASE DE TERCERA DIVISION DE LINFOCITOS HUMANOS.	37

FIGURA 7. METAFASE DE PRIMERA DIVISION DE MEDULA OSEA DE RATON.	38
FIGURA 8. METAFASE DE SEGUNDA DIVISION DE MEDULA OSEA DE RATON.	39
FIGURA 9. METAFASE DE TERCERA DIVISION DE MEDULA OSEA DE RATON.	40



## BIBLIOGRAFIA.

1. MARTIN-ABREU, L. FUNDAMENTOS DE GASTROENTEROLOGIA, ED. FRANCISCO MENDEZ CEAVANTES, MEXICO, MEXICO, D.F., pp. 286-296, 1981.
2. HERRERA, N. ¿BEBEDOR O ALCOHOLICO ? HACIA UNA DETECCION OPORTUNA, INFORMACION CIENTIFICA Y TECNOLOGICA 9:23-26, 1987.
3. NAVEILLAN, F.P. SOBRE EL CONCEPTO DE ALCOHOLISMO, BOL. OF SANIT. PANAM. 91:340-348, 1981.
4. LIEBER, C.S., BARAONA, E., LEO, M.A., GARRO, A. METABOLISM AND METABOLIC EFFECTS OF ETHANOL, INCLUDING INTERACTION WITH DRUGS, CARCINOGENS AND NUTRITION. MUTAT. RES. 186: 201-233, 1987.
5. MOLINA, V., ROMAN, C., BARRUECOS, L., SANCHEZ, L. EL ALCOHOLISMO EN MEXICO. III. MEMORIAS DEL SEMINARIO DE ANALISIS, SOCIEDAD MEXICANA DE GEOGRAFIA Y ESTADISTICA, FUNDACION DE INVESTIGACIONES SOCIALES, A.C., MEXICO, pp. 127-133, 1983.
6. THORN, G., ADAMS, R., BRAUNWALD, E., ISSELBACHER, K., PETERSDORF, A. MEDICINA INTERNA HARRISON. ED. LA PRENSA MEDICA MEXICANA, MEXICO, D.F., pp. 824-826, 1981.
7. CRUZ-COKE, A., BIANCANI. HERENCIA DEL ALCOHOLISMO, RETA. MED. CHILE, 194:63, 1966.
8. CRUZ COKE, A., VARELA, A. INHERITANCE OF ALCOHOLISM, LANCET 10:1282, 1966.
9. AMARK, C. A STUDY IN ALCOHOLISM, ACTA. PSYCHIATR. NEUROL.

- SCAND. 70; (SUPPL.) 1283, 1951.
10. WINOKUR, G. X-BORNE RECESSIVE GENES IN ALCOHOLISM. LANCET 150:466, 1967.
  11. BENAVIDES, G. ALCOHOLISMO Y GENETICA, REV. MED. HOSP. GRAL. 42:133-135, 1979.
  12. LEMOINE, P.; HAROU SEAU, H. BORTEYAU, J. P. LES ENFANTS DE PARENTS ALCOOLIQUES: ANOMALIES OBSERVEES. QUEST. JMED. 25:476, 1968.
  13. OULELETTE, R., ROSETT, H., ROSMAN, P., WEINER, L. ADVERSE EFFECT ON OFFSPRING OF MATEARNAL ALCOHOL ABUSE DURING PREGNANCY. N. ENGL. J. MED. 297:528, 1977.
  14. HANSON, J. W., STREINSSGUTH, A. P., SMITH, D. W. THE EFFECTS OF MODERATE ALCOHOL CONSUMPTION DURING PREGNANCY ON FETAL GROWTH AND MORPHOGENESIS. J. PEDIAT. 272:168, 1976.
  15. CLARRAN, S., SMITH, P. THE FETAL ALCOHOL SYNDROME N. ENGL. J. MED. 298:1063, 1978.
  16. KENNETH, L. J., SMITH, C. N., PYTRAKOWCZ, S. PATTERN OF MALFORMATION IN OFFSPRING OF CHRONIC ALCOHOLIC MOTHERS. LANCET 3:1267, 1973. 53
  17. HOEFT, H., OBE, G. SCE- INDUCING CONGENERS IN ALCOHOLIC BEVERAGES, MUTAT. RES. 121:247-251, 1983.
  18. OBE, G., RISTOW, H. MUTAGENIC, CANCEROGENIC AND TERATOGENIC EFFECTS OF ALCOHOL, MUTAT. RES. 65:229-259, 1979.
  19. GRAEIZERSTEIN, H. CONGENER CONTENTS OF ALCOHOLIC BEVERAGES, J. STUD. ALCOHOL 42: 1030-1037, 1981.
  20. AMERINE, M. A., CRAVENS, W. V. THE TECHNOLOGY OF WINE

MAKING. AVI. PUBLISHING COMPANY, INC., WESPORT, CONNECTICUT, pp. 582-642, 1982.

21. NAGAO, M., TAKAHASHI, K., WAKABAYASHI, K., SUGIMURA, T. MUTAGENICITY OF ALCOHOLIC BEVERAGES, MUTAT. RES. 88:147-154, 1981.

22. LOQUET, C., TOUSSAINT, G., LETALAER, J.Y. STUDIES ON MUTAGENIC CONSTITUENTS OF APPLE BRANDY AND VARIOUS ALCOHOLIC BEVERAGES COLLECTED IN WESTERN FRANCE, A HIGH INCIDENCE AREA FOR OESOPHAGEAL CANCER. MUTAT. RES. 88:155-164, 1981.

23. LATT, S.A., ALLEN, J.W., SHULER, C., LOVEDAY, K.S., MUNROE, S.H. THE DETECTION AND INDUCTION OF SISTER CHROMATID EXCHANGES. IN MOLECULAR HUMAN CYTOGENETICS. VOL. VII, ICM-UCLA SYMPOSIA, R.S. SPAARKS, D.E. COMING, C.F. GOX, EDS. ACADEMIC PRESS, NEW YORK, pp. 315-331, 1977.

24. TAYLOR, J.H., WOODS, P.S. HUGHES, W.L. THE ORGANIZATION AND DUPLICATION OF CHROMOSOMES AS REVEALED BY AUTORADIOGRAPHIC STUDIES USING TRITIUM-LABELLED THYMIDINE. PROC. NATL. ACAD. SCI. U.S. 43:122-128, 1957.

25. BIANCHI, N.D. DUPLICACION CROMOSOMICA Y HETEROCROMATINA A NIVEL MOLECULAR Y CITOLOGICO. DEPARTAMENTO DE ASUNTOS CIENTIFICOS DE LA SECRETARIA GENERAL DE LA ORGANIZACION DE LOS ESTADOS AMERICANOS, U.S.A., pp. 13-24, 1978.

26. LATT, S.A. MICROFLUOROMETRIC DETECTION OF THE DEOXYRIBONUCLEIC ACID REPLICATION IN HUMAN METAPHASE CHROMOSOMES, PROC. NATL. ACAD. SCI. U.S.A., 70: 3395-3399, 1973.

27. KATO, H. SPONTANEOUS SISTER CHROMATID EXCHANGES DETECTED BY A BUdR-LABELLING METHOD. NATURE 251:70, 1974.
28. PERRY, P., WOLFF, S. NEW GIEMSA METHOD FOR THE DIFFERENTIAL STAINING OF SISTER CHROMATID, NATURE 251:156-158, 1974.
29. SCHNEIDER, E.L., NAKANISHI, Y., LEWIS, J., STERNBERG, H. SIMULTANEOUS EXAMINATION OF SISTER CHROMATID EXCHANGES AND CELL REPLICATION KINETICS IN TUMOR AND NORMAL CELLS IN VIVO, CANCER RES., 41:4973-4975, 1981.
30. IVETT, J. L., TICE, R. A. AVERAGE GENERATION TIME: A NEW METHOD FOR ANALYZING CELLULAR PROLIFERATION KINETICS BASED ON BROMODEOXYURIDINE-DEPENDENT CHROMOSOMAL DIFFERENTIAL STAINING PATTERNS, ENVIRON. MUTAGEN. 4:358, 1984.
31. MOORHEAD, P., NOWELL, P. CHROMOSOME PREPARATIONS OF LEUKOCYTES FROM HUMAN PERIPHERICAL BLOOD, EXP. CELL RES. 20: 603-605, 1960.
32. GOTO, K., AKEMATSU, T., SHIMATZU, H. SIMPLE DIFFERENTIAL GIEMSA STAINING OF SISTER CHROMATID AFTER TREATMENT WITH PHOTOSENSITIVE DYES AND EXPOSURE TO LIGHT AND THE MECHANISM OF STAINING, CHROMOSOMA 53:223-230, 1975.
33. STEEL/TORRIE. BIESTADISTICA. PRINCIPIOS Y PROCEDIMIENTOS, Mc GRAW-HILL, COLOMBIA, pp. 166-185. 1985.
34. CASTAÑEDA, P. R., BIOESTADISTICA APLICADA, ED. TRILLAS, MEXICO, pp.185-187, 1983.
35. PHEE, D. H., MARQUEZ, R. A., BERMUDEZ, J. G., VALDEPEÑA, J. L. TÉCNICAS DE DISEÑO EXPERIMENTAL, CENTRO DE INVESTIGACION Y

ESTUDIOS AVANZADOS, pp. 1-37, 1981.

36. MCFEE, A., LOWE, K.W., SAN SEBASTIAN, J.A. IMPROVED BISTER - CHROMATID DIFFERENTIATION USING PARAFFIN - COATED BROMODEOXYURIDINE TABLETS IN MICE. MUTAT. RES. 119: 83-88, 1983.

37. NYKANEN, L. FORMATION AND OCCURENCE OF FLAVOR COMPOUNDS IN WINE AND DISTILLED ALCOHOLIC BEVERAGES, AM. J. ENOL. V. 37: 84-96, 1986.

38. TUYNS, A. J., GRACIUTE, L. L. CARCINOGENIC SUBSTANCE IN ALCOHOLIC BEVERAGES, IN: W. DAVIS, K. A. HARRAP AND G. STATHOPOULOS (EDS), ADVANCES IN TUMOR PREVENTION, DETECTION AND CHARACTERIZATION, Vol. 5, HUMAN CANCER, ITS CHARACTERIZATION AND TREATMENT, EXCEPTA MEDIA, AMSTERDAM, pp. 130-135, 1980.

39. CONACHER, H. B. S., PAGE, B. D. ETHYL CARBAMATE IN ALCOHOLIC BEVERAGES: A CANADIAN CASE HISTORY IN: PROCEEDINGS OF EURO. FOOD TOX. II, INTERDISCIPLINARY CONFERENCE ON NATURAL TOXICANTS IN FOOD, ZURICH, pp. 237-242, 1986.

40. OBE, G., ANDERSON, D. GENETICS EFFECTS OF ETHANOL. MUTAT. RES. 186: 177-200, 1987.

41. WOLFF, D. DIFFICULTIES IN ASSESSING THE HUMAN HEALTH EFFECTS OF MUTAGENIC CARCINOGENS BY CYTOGENETIC ANALYSES, CYTOGENET. CELL GENET. 33: 7-13, 1982.

42. STOLTZ, D. A., STAVRAC, B., KRAWSKI, D., KLASSEN, A., BENDALI, A., JUNKINS, B. MUTAGENICITY SCREENING OF FOODS. I. RESULTS WITH BEVERAGES, ENVIRON. MUTAGEN. 4: 47-62, 1982.

43. SRIA. DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL: NORMA OFICIAL MEXICANA (NOM-V-18-1983) "BEBIDAS ALCOHOLICAS DESTILADAS-BRANDY". DIRECCION GENERAL DE NORMAS, 1983.

44. SWANN, P.F., GRAVES, R.J., MACE, A. EFFECT OF ETHANOL ON NITROSAMINE METABOLISM AND DISTRIBUTION. IMPLICATIONS FOR THE ROLE OF NITROSAMINES IN HUMAN CANCER AND FOR THE INFLUENCE OF ALCOHOL CONSUMPTION ON CANCER INCIDENCE. MUTAT. RES. 186:261-267, 1987.