



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“INFLUENCIA DE ALGUNAS DROGAS DE ABUSO EN
MUTACIONES GENÉTICAS EN UNA CEPA DE
ESCHERICHIA COLI.”**

TESIS PROFESIONAL

LETICIA MARGARITA ROMERO OCHOA

MARISELA RIVERA RIVERA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P.

1985

T
QH4
.C5
R6
C.1



1080075645



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**“ INFLUENCIA DE ALGUNAS DROGAS DE ABUSO EN
MUTACIONES GENETICAS EN UNA CEPA DE
ESCHERICHIA COLI. ”**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A N :

LETICIA MARGARITA ROMERO OCHOA

MARISELA RIVERA RIVERA

SAN LUIS POTOSI, S.L.P.

1985

T
QH465
.C5
R6



Señor, que yo encomiende
el pasado a tu Misericordia
el presente a tu Amor
y el porvenir a tu Providencia.
Me pongo en tus manos
haz de mi lo que quieras
sea lo que sea
te doy las gracias.

Para quienes con su esfuerzo y trabajo
he podido realizar mis estudios. Me han
dado amor, comprensión, apoyo y confian
za siempre, que son mi mejor estímulo:.

Mis padres:

Carlos Romero González

y

Margarita Ochoa de Romero

A mis hermanos:

Carlos Luis

Ma. de Jesús

José Gilberto

Ma. Yolanda

Martha Elena

Juan Manuel

Jessica Karina

Con cariño.

LETICIA

Con todo mi cariño y agradecimiento
a mis padres: ZENON RIVERA BRAVO
y EVA RIVERA DE RIVERA, por su apo
yo y comprensión que siempre me han
brinado.

Con cariño a mis hermanos:

Juan Antonio
Juan Carlos
Juan José
Luis Gerardo
María del Rocío
Rosalba
Ana Cecilia

Mi agradecimiento al Sr.
Luis E. Pizzuto.

MARISELA

A la Srita. Q.F.B. LUCIA MENDOZA P.

Con agradecimiento y cariño por su apoyo, ayuda, paciencia y conocimientos que siempre nos brindó con el ase soramiento de éste trabajo.

Agradeciendo a todo el personal del
Departamento de Fisiología y Farma-
cología de la Escuela de Medicina.

De una manera muy especial para
la Dra. MARTHA SAYAVEDRA DE MEDELLIN
con cariño y respeto, por su ayuda y
dedicación, sin cuyos consejos y co-
nocimientos este trabajo no hubiera
podido realizarse.

Gracias.

FUENTE CHICA No.145
TEL. 5-60-63
SAN LUIS POTOSI S. L. P.

I N D I C E

I.	INTRODUCCION	1
II.	OBJETIVOS	3
III.	GENERALIDADES	4
	Genética molecular	5
	El gen y su mutación	6
	Farmacodependencia	10
	Peyote y mezcalina	12
	Mezcalina	14
	Barbitúricos	17
	Fenobarbital	19
	Metaqualona	21
	Escherichia coli	24
IV.	METODOLOGIA	26
V.	DISEÑO EXPERIMENTAL	32
VI.	RESULTADOS	34
VII.	DISCUSION	55
VIII.	CONCLUSIONES	63
IX.	BIBLIOGRAFIA	64

I N T R O D U C C I O N

En la actualidad es muy común, el abuso de fármacos, así como de algunos principios activos, extraídos directamente de su origen natural.

El uso desmedido de drogas tan controvertidas como son: mezcalina, fenobarbital y metaqualona, nos despertaron la inquietud de investigar si existe daño o alteraciones en el material genético en organismos vivos, provocados por el uso de dichas drogas.

La producción masiva de diversas sustancias, ocasionada por los avances tecnológicos, propicia que las poblaciones se encuentren cada vez más expuestas a ellas. Es evidente que los productos químicos han participado en el mejoramiento de las condiciones de vida, sin embargo, también se han puesto de manifiesto algunos efectos dañinos de éstos productos sobre la población.

El daño inducido por diversos factores al material genético, a través de la mutagénesis, es uno de los riesgos toxicológicos que no han sido valorados suficientemente a pesar de su repercusión en la salud de los individuos afectados y sus descendientes, el problema es mayor cuando la juventud añade riesgos voluntarios a sus organismos con la adición de drogas. Por ésta razón, el interés científico que éste proyecto encierra es de gran importancia, independientemente del logro alcanzado en su realización. En éste proyecto nos propusimos realizar estudios en el material genético (DNA), RNA y proteínas totales, en una cepa de Escherichia coli no virulenta, expuesta a dosis variables de algunas drogas de abuso, tales como mezcalina, fenobarbital y metaqualona.

Debido a que el estudio genético a través de generaciones en organismos multicelulares, sería muy largo, además de requerir del uso de un equipo especializado, el cual no está a nuestro alcance, se pensó en utilizar un organismo unicelular: *Escherichia coli*, pues las bacterias son organismos excelentes para diversos estudios, ya que representan numerosas ventajas que las hacen preferibles a los tejidos animales. Poseen la mayor parte de las propiedades de otros organismos superiores, pero se multiplican con mayor rapidez que éstos y la población celular es homogénea, lo que representa una oportunidad única para estudiar los fenómenos genéticos a una escala temporal notablemente breve.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo, es concretar el estudio al efecto de drogas de adicción, analizando las repercusiones o alteraciones que en el material genético y en el sistema biosintetizador de proteínas, pudieran tener éstas drogas, ensayadas a diferentes dosis, y en diferentes generaciones bacterianas sucesivas.

Las interrogantes que por llevaron al planteamiento y elaboración del trabajo fueron:

- 1.- Existe mutación genética a nivel celular, causado por droga de abuso en caso particular, marihuana, fenobarbital y metadona?
- 2.- Las alteraciones en el material genético estarían supeditadas a las dosis empleadas?
- 3.- Las alteraciones que se observaran en las células por acción de éstas drogas, repercuten o no en las generaciones sucesivas?
- 4.- En caso de que el consumo de drogas de adicción produjera daños genéticos o celulares que se transmitieran a sus descendientes, son éstos reversibles o irreversibles, y en qué generación?

O B J E T I V O S

Es irrefutable el problema que implican las drogas de abuso, sobre todo en grupos jóvenes de población. Si bien, se conocen algunos de los efectos fisiológicos, patológicos y etiológicos de las mismas, se sabe relativamente poco acerca de su acción genética. Como tal efecto es difícil de medir en el hombre directamente, se utilizan diversos organismos como indicadores, en este caso, la *Escherichia coli*, sometida a dosis variables de las drogas utilizadas.

Por lo tanto, el objetivo de éste trabajo, es concretar el estudio al efecto de drogas de adicción, analizando las repercusiones o alteraciones que en el material genético y en el sistema biosintetizador de proteínas, pudieran tener éstas drogas, ensayadas a diferentes dosis, y en diferentes generaciones bacterianas sucesivas.

Las interrogantes que nos llevaron al planteamiento y elaboración del trabajo fueron:

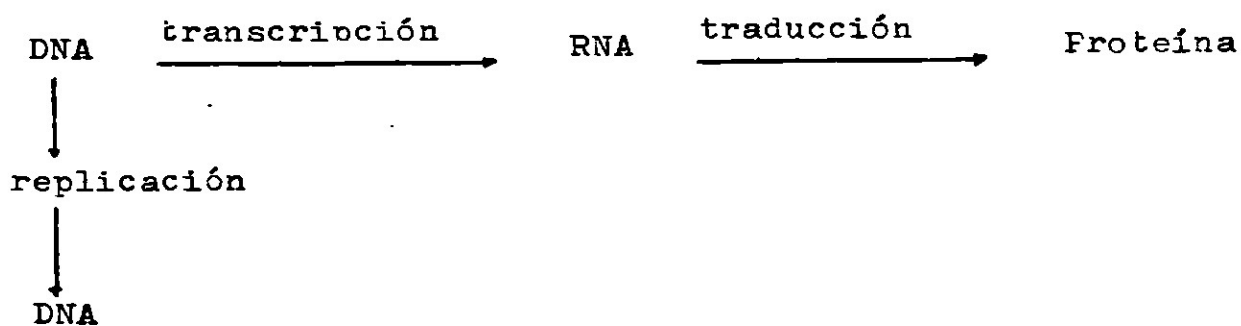
- 1.- Existe mutación genética a nivel celular, causado por droga de abuso en caso particular, mezcalina, fenobarbital y metaqualona?
- 2.- Las alteraciones en el material genético estarán supeditadas a las dosis empleadas?
- 3.- Las alteraciones que se observaran en las células por acción de éstas drogas, repercuten o nó en las generaciones sucesivas?
- 4.- En caso de que el consumo de drogas de adicción produjera daños genéticos o celulares que se transmitiera a sus descendientes, son éstos reversibles o irreversibles, y en qué generación?

GENERALIDADES

La teoría celular afirma que animales, plantas y bacterias, están formados por células, las cuales presentan un ciclo vital en su vida: gozan más o menos de las propiedades - de tamaño y forma específica, metabolismo, movimiento, irritabilidad, crecimiento, reproducción y adaptación.

Los seres orgánicos al multiplicarse, producen otros seres con características semejantes a las suyas, ya que en el núcleo celular están contenidos los ácidos nucleicos que --- transmiten las características a sus descendientes, por lo que constituyen la base de la herencia.

Los conceptos generales acerca del mecanismo de la herencia, se cuentan entre las teorías biológicas más exactas y cuantitativas. La genética molecular reinterpreta, en términos de moléculas la genética Mendeliana. Trata del material genético (DNA); de la replicación del DNA para formar más DNA de la transcripción del DNA en RNA y de la traducción del RNA en proteínas en forma de cadenas polipeptídicas.



Los ácidos nucleicos son macromoléculas compuestas de bases de pirimidinas y purinas unidas a un fosfodiéster enlazado con un polímero de ribosa (RNA), o una desoxirribosa (DNA). La estructura básica de DNA es una doble hélice unida mediante enlaces de hidrógeno, entre purinas y pirimidinas en cadenas opuestas, e interacciones hidrófobas entre éstos pares de bases. La estructura básica de RNA es de un sólo filamento que puede combinarse consigo mismo por el mismo tipo de enlaces de hidrógeno que estabilizan al DNA. El DNA de la célula es un compuesto de peso molecular muy alto que transfiere la información genética de una generación a la siguiente. La mayor parte de RNA celular se encuentra en forma de partículas de ribonucleoproteína llamadas ribosomas, mientras que una pequeña porción se encuentra en forma de moléculas de RNA de transferencia y mensajero. Los tres clases de RNA intervienen en la capacidad sintética de la célula. (-34)

RNA mensajero: lleva la información genética desde la molécula del DNA al citoplasma. Se forma en el núcleo sobre un molde constituido por uno de los dos cordones de la doble hélice del DNA. Pasa del núcleo al citoplasma, donde se halla asociado con los ribosomas.

RNA de transferencia: actúa como un ajustador, su función consiste en transferir aminoácidos activados por fermentos especiales a los lugares adecuados del molde de aminoácidos del RNA mensajero, es una molécula mucho menor que el RNA mensajero.

RNA ribosomal: cumple una función no específica en conexión con los ribosomas. El papel del ribosoma es unirse a un punto "adherente" de la molécula de mRNA y seguir a lo largo del RNA "leyendo" el código y alineando las unidades aminoácido-

tRNA con los codones adecuados. Entonces se forman enlaces peptídicos entre los aminoácidos, mediante un sistema enzimático del ribosoma. Cuando el enlace peptídico se ha formado, la cadena polipeptídica empieza a desprenderse del ribosoma. Cuando el ribosoma llega al final del mRNA, libera el polipeptido completo, salta y busca una nueva molécula de mRNA para traducir. (36,37)

EL GEN Y SU MUTACION

El concepto de gen ha sido, que se trata de una unidad de estructura, de función y de mutación.

Se define como mutación todo cambio hereditario en el material genético. Las mutaciones representan errores en la replicación del DNA, por incorporar los sustratos de nucleótidos en forma no adecuada (o en las reacciones de intercambio análogos de purina y pirimidina que se combinan con otras porciones del DNA molecular).

Las mutaciones pueden identificarse gracias al efecto que producen sobre el fenotipo.

La velocidad con que ocurren las mutaciones aumenta por la acción de agentes mutagénicos, pudiendo ser:

- 1.- Agentes físicos: radiaciones ultravioleta, rayos X.
- 2.- Agentes químicos: mostaza nitrogenada, 6 mercapto purina, ácido nitroso, LSD, fosfamidas, acridina, etiluretano, fenol, metilcolantreno, éstos últimos descubiertos por Charlotte Auerbach, durante la segunda guerra mundial. (12)
- 3.- Agentes biológicos: virus.

Cualquier sitio del genoma puede ser mutado. La mutación solamente sucede durante la replicación.

Las mutaciones pueden ser:

- 1.- SILENCIOSAS: en las cuales la mutación se llevó a cabo pero no se expresa fenotípicamente porque: a) el triplete cambiado codifica para el mismo aminoácido que el original; b) causa una sustitución en un aminoácido que no codifica apreciablemente la función de la proteína; c) el cambio ocurre en un gen que no es expresado y d) la presencia de mutaciones supresoras que corrigen fenotípicamente la mutación.
- 2.- NO SILENCIOSAS: cuya manifestación fenotípica puede ser leve o mortal. (21)

Mecanismos de corrección de la mutación:

Reversión.- la reversión se refiere a un "regreso" al fenotipo original el cual puede deberse porque sucede otra mutación en el mismo nucleótido de la mutación primera, regenerando el nucleótido original (reversión verdadera) o porque sucede otra mutación o cambio en un sitio diferente a la primera mutación que fenotípicamente corrige (supresión). La manera de identificar cual de éstos dos mecanismos (reversión verdadera o supresión) fué el causante de la reversión, es re combinando el organismo no mutado con el supuestamente supresor. Si uno de los progenies expresa el mutante, el mecanismo fué por supresión, y si toda la progenie fué fenotípicamente normal, la supuesta mutación fué corregida por reversión verdadera.

La supresión puede llevarse a cabo: a) extragénica en el cual los supresores actúan a nivel del metabolismo por alterar un cofactor o inhibidor o afectando la traducción. b) intragénica, compensan la mutación con otra en el mismo gen. Estas a su vez son: I. intracodon, el codon combinado es reemplazado por otro que es menos deletéreo para la función de la proteína. II. transposición, mutaciones leídas marco, añaden un cam

bio en el marco opuesto en dirección a una mutación ya introducida en el gen, restaurando la lectura normal. III. sustitución de un aminoácido distinto de la mutación causada, que contribuyen a que la proteína tenga la misma estructura terciaria que la original. c) intergénica, la mutación ocurre en otro gen, llamado gen supresor. Esta suresión no actúa cambiando el nucleótido en el segmento del DNA mutado, ella cambia la manera en el cual el mensaje es leído. (21)

Cambios en la secuencia de nucleótidos en el DNA mutado: Mutaciones de punto derivadas de cambios que afectan un único nucleótido:

1.- Reemplazamiento de un nucleótido por otro: a) transiciones una purina es sustituida por otra purina o una pirimidina por otra pirimidina. b) transversiones, un par de purina-pirimidina es reemplazada por pirimidina-purina y viceversa.

2.- Inserción de un nucleótido extra.

3.- Pérdida de un nucleótido: deleciones, consisten en la pérdida de más de un nucleótido (cientos a miles). No presentan reversión y fallan al producir recombinantes originales en sitios diferentes dentro de la región correspondiente a la deleción. La identificación de una deleción se puede llevar a cabo por recombinación genética con mutaciones de punto seleccionadas.

(21)

Mutaciones microbianas.

La mayor parte de las mutaciones microbianas son inducidas: ocurren con velocidad acelerada en respuesta a condiciones ambientales voluntariamente alteradas y en ocasiones se presentan espontáneamente.

Algunos tipos de agentes mutagénicos actúan aparentemente aumentando la frecuencia en la tautomería de las bases, o por otra parte, la formación de enlaces de hidrógeno con una base "errónea" durante la autorreproducción. (33)

Las mutaciones que afectan la producción de la cápsula, son fácilmente demostrables. La forma coloidal normal producida por muchas bacterias verdaderas es lisa, redonda y brillante. Las formas mutantes presentan colonias rugosas y mucoides. (16)

La frecuencia de las mutaciones coloniales varía ampliamente entre las especies e incluso en una misma especie. Las cifras promedio de mutación son de una mutación por diez millones de células en un cultivo. Las mutaciones invertidas, esto es de las formas rugosas a las formas lisas ocurren en índices muy bajos.

Es fácil observar mutaciones que alteran la producción del pigmento, pero en muchos casos los cambios bioquímicos reales se desconocen. Las mutantes son prácticamente estables y se distinguen por la pérdida completa de color o la producción de tintes intermedios. (16)

De acuerdo con el objetivo de nuestro trabajo, de investigar alteraciones o daño en el material genético inducido - por drogas de abuso, haremos un breve bosquejo de algunos conceptos de farmacodependencia, clasificación y generalidades específicas sobre las drogas utilizadas en la realización del mismo.

FARMACODEPENDENCIA

En 1964, la Organización Mundial de la Salud acuñó el término dependencia y recomendó la sustitución de las palabras "toxicomanía" y "habituación", por las de nuevo cuño.

Se definió fármaco o droga como "toda sustancia que, introducida en el organismo vivo, puede modificar una o más de sus funciones". (5, 15)

Así surgió el término farmacodependencia, el que comprende el "estado psíquico y a veces físico causado por la interacción entre un organismo vivo y un fármaco", se caracteriza por modificaciones del comportamiento y un impulso - irreprimible a tomar fármacos en forma continua o periódica a fin de experimentar sus efectos psíquicos y a veces, para evitar el malestar producido por la privación". La dependencia puede o no ir acompañada de tolerancia que es "la adaptación del organismo a los efectos de la droga", lo que implica la necesidad de aumentar la dosis para seguir obteniendo resultados de igual magnitud. (8,10)

Otro término común es el de "abuso", inicialmente fué definido como "el consumo de una droga sin una necesidad - médica o en cantidades innecesarias". Pero en 1969, surgió una nueva definición, "uso excesivo, persistente o esporádico, incompatible o sin relación con la práctica médica habitual". (5)

Las drogas capaces de producir dependencia recibieron el nombre de estupefacientes o narcóticos.

El término de droga psicotrópica comprende toda aquella droga que actúa sobre la función psíquica, la conducta o la experiencia. Las drogas psicotrópicas fueron divididas en dos grandes grupos: el de los depresores y el de los estimulantes del sistema nervioso central. Posteriormente, Delay señaló tres grupos: psicolépticos, que producen depresión y relajación; psicoanalépticos que estimulan la actividad mental y psicodislépticos, sustancias capaces de producir fenómenos mentales anormales. (3, 27, 28)

En 1967, la OMS propuso una clasificación basada en la eficacia clínica de las drogas, las cuales están englobadas de acuerdo a su acción principal, y que consta de cinco grupos: neurolépticos, sedantes ansiolíticos, psicoestimulantes, psicodislépticos y antidepresores. (27)

Las drogas utilizadas en este trabajo, se encuentran dentro de los siguientes grupos:

Sedantes ansiolíticos - METAQUALONA y FENOBARBITAL

Psicodislépticos - MEZCALINA

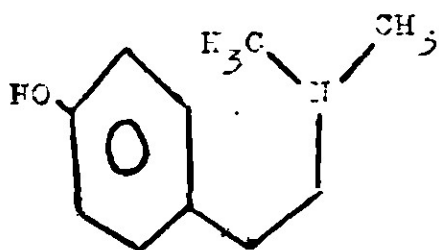
(27)

PEYOTE Y MEZCALINA

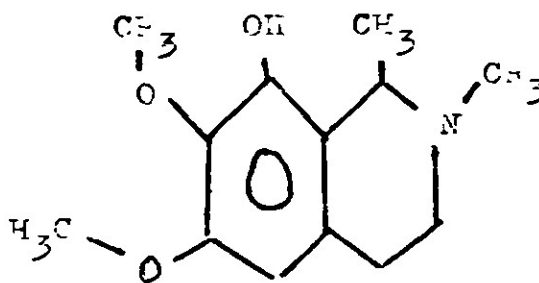
Peyote (o peyotl) suele referirse a la punta seca de la cactácea *Lonchopora williamsii* que también se conoce como *Anhalonium lewinii*. Es originaria de México y del sur oeste de Estados Unidos, la parte visible de la planta es una pequeña esfera plana, sin estructura, gris verdosa (botón) - debajo de la cual hay una raíz perforante grande. El botón del peyote también se conoce como botón de mezcal.

La mezcalina se aisló del peyote en 1896 por el neurólogo estadounidense Weir Mitchell y el psicólogo inglés Havelock Ellis, describieron los efectos de la mezcalina; se dijo que producía "un paraíso artificial" y "sobre todo una orgía visual". (2)

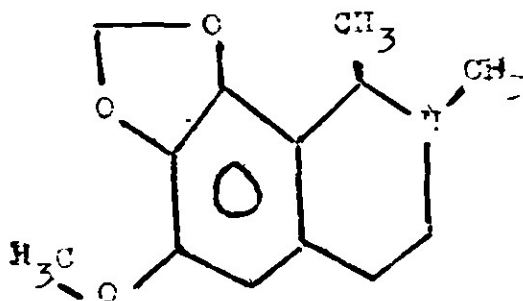
ALCALOIDES ANHALONICOS DEL PEYOTE:



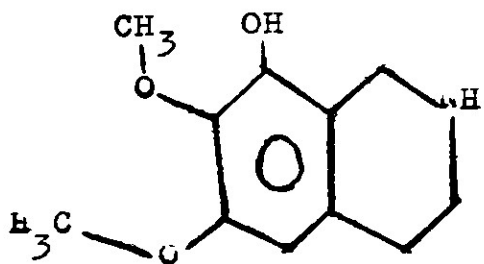
Hordenina (Anhaline)



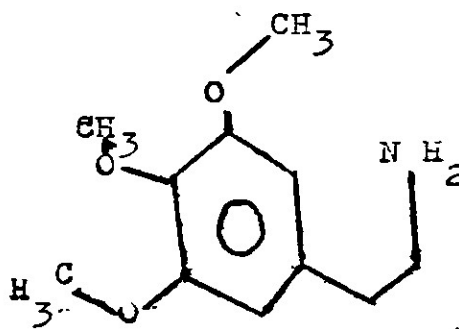
Peyotina



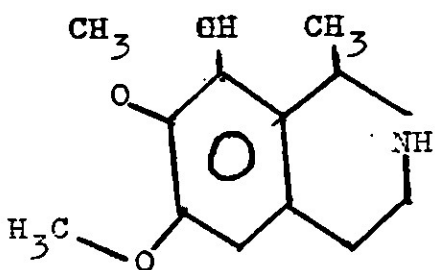
Loforforina



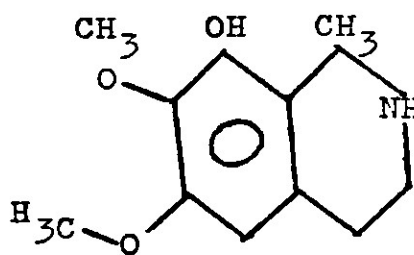
Anhalamina



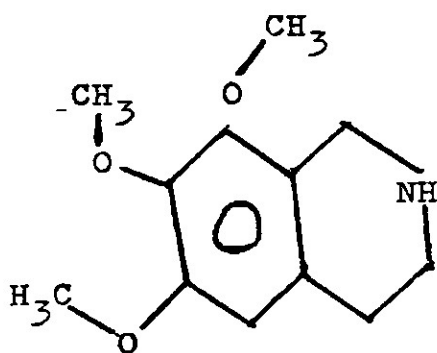
Mezcalina



Anhalonidine



Anhalonina



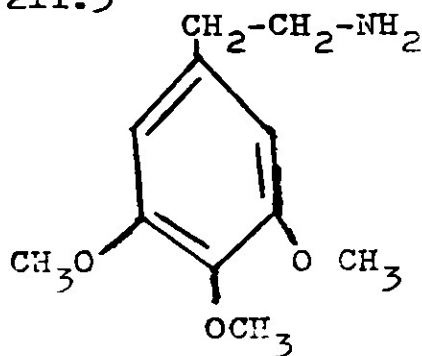
Anhalinina

MEZCALINA

3,4,5 - Trimetoxifenilamina

C₁₁ H₁₇ N O₃

Peso molecular 211.3



Alcaloide obtenido de el cactus de *Lophophora williamsii* (*Anhalonium lewinii* o *Anhalonium williamsii*).

Cristales, los cuales toman un bióxido de carbono del aire. Punto de fusión 35° a 36°. Punto de ebullición 180°C. Soluble en agua, etanol y cloroformo; casi insoluble en éter.

La mezcalina es extraída por solventes orgánicos de soluciones acuosas alcalinas.

Metabolismo: la mezcalina es metabolizada principalmente por deaminación oxidativa del ácido 3,4,5-trimetoxifenilacético; otro metabolito es el ácido 3,4-dihidroxi-5-metoxifenilacético, es sintetizado para ser excretado como una glutamina conjugada.

Absorción, destino y excreción: por vía oral y parenteral. Una vez absorbida pasa a la sangre y se distribuye por todos los órganos, concentrándose especialmente en hígado, riñón y bazo. La mezcalina se transforma en ácido 3,4,5-trimetoxifenilacético libre, el cual es inactivo. Ingerida oralmente, la mezcalina es excretada en la orina en un promedio de 81.9% de la dosis administrada durante las primeras doce horas. (5,

19)

Algún tipo de mezcalina se fija a las proteínas del plasma y a las proteínas del hígado. Jacobsen, 1963. (5)

Dosis: la dosis común requerida para producir alucinación en el hombre es de 400 a 700 mg por inyección. El máximo efecto se produce entre una y dos horas después de su administración, la duración de su acción es de nueve a doce horas. (5)

Acciones psíquicas: una vez administrada la mezcalina en el hombre, después de un período de latencia de veinte a treinta minutos vía oral, o de diez a quince minutos vía intramuscular, comienza una fase de excitación psíquica, precedida o coincidente con manifestaciones autonómicas; se produce al principio una distorsión de las sensaciones, en que los colores se ven más brillantes, los objetos más grandes o muy cercanos, o bien el propio sujeto se siente como un enano o un gigante. Se originan entonces alucinaciones especialmente visuales, en forma de imágenes fantásticas de extraordinaria viveza y colorido, generalmente de naturaleza cinética. Al desaparecer las alucinaciones, se puede producir un estado de ansiedad y aún de angustia con gritos. (19)

Identificación mediante reacciones químicas con desarrollo de color (pruebas presuntivas)

- a) Acido sulfúrico-formaldehído (Marquis): desarrollo de color naranja.
- b) Acido nítrico (Vitali): desarrollo de color rojo tinto que cambia a rosa pardo que se decolora.
- c) Molibdato de amonio (Fröhde): desarrollo de color amarillo verdoso que cambia a ámbar.

Procedimiento: agregar una pequeña cantidad de muestra a 0.5ml

del reactivo correspondiente y observar los colores desarrollados. (5)

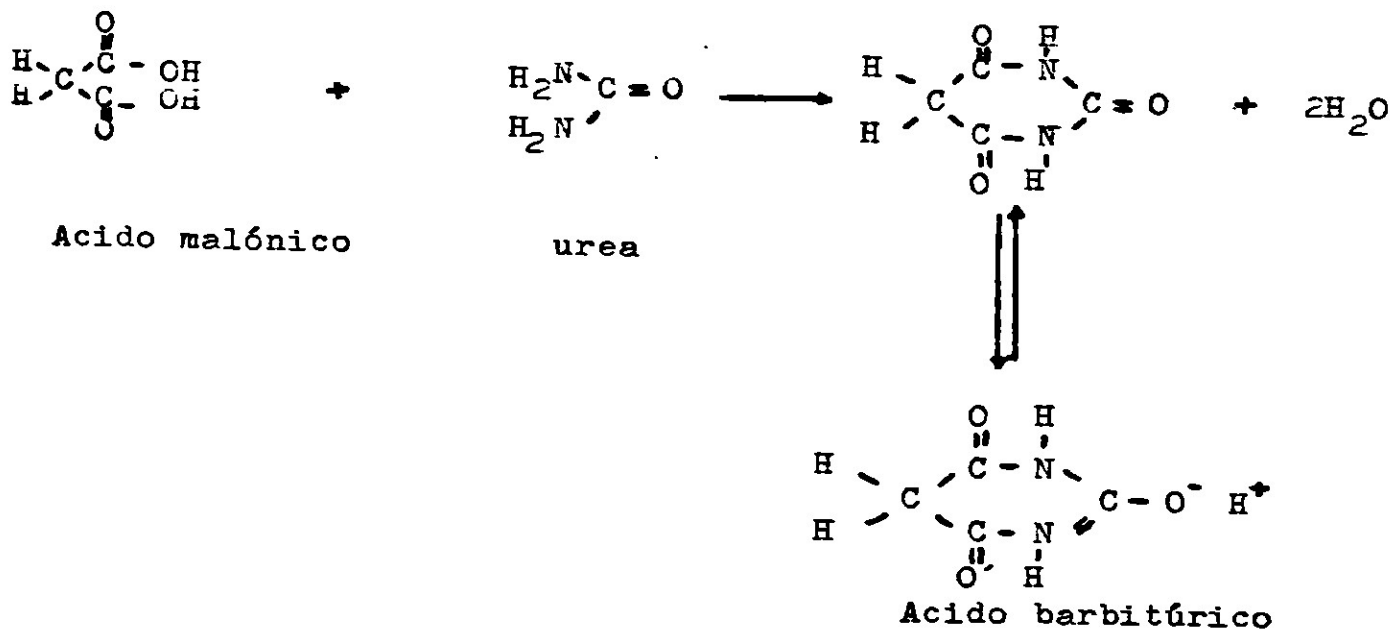
Pruebas microcristalinas: colocar en un portaobjetos, muy próximas una de la otra, una gota de solución de la sustancia problema y una gota del reactivo, utilizando tubos capilares. Mover ligeramente el portaobjetos hasta poner en contacto las dos gotas y observar al microscopio mediante objetivo seco débil, los cristales formados.

Con el reactivo de yoduro de bismuto y potasio se observan rosetas densas. (5)

BARBITURICOS

El ácido barbitúrico (malonilurea) se forma por condensación del ácido malónico con la urea; fué preparado primeramente en 1863. Se llamó así porque fué descubierto el día de Santa Bárbara por Bayer, dado los problemas causados por los barbitúricos, debe señalarse que Santa Bárbara es el santo patrón de quienes manipulan explosivos.

El ácido barbitúrico, por sí solo carece de acción depresora, pero se preparan derivados activos del mismo, sustituyendo radicales alquilo o arilos en el carbono cinco, o por sustitución de los átomos de nitrógeno. Los tio barbitúricos se preparan con tiourea y tienen azufre en lugar del oxígeno como sustituyentes del carbono dos. Los barbitúricos son relativamente insolubles pero forman sales que son más solubles en agua que el compuesto original.



El barbital (veronal, ácido dietilbarbitúrico) fué el primer barbitúrico hipnótico introducido en medicina en 1903. (2)

El fenobarbital siguió en 1912, y desde entonces se han preparado más de dos mil quinientos barbitúricos, de los cuales - unos cincuenta están en el mercado.

Los barbitúricos producen el sueño actuando en el hipotálamo de preferencia, el núcleo fijador es la urea y el núcleo hipnógeno el o los radicales dialcoholados de constitución química variable.

Los barbitúricos producen sus efectos sedantes hipnóticos y anestésicos, deprimiendo directamente la transmisión sináptica, en particular a nivel del sistema activador reticular ascendente. El trastorno de la función sináptica en otras partes del sistema nervioso central puede explicar algunos de los efectos indeseables de éstas drogas. También ejercen menos acción sobre vías sensitivas directas; por lo tanto, no son analgésicos. Retrasan el aumento de permeabilidad para el sodio que origina la fase de elevación del potencial de acción, disminuyen la conductancia de sodio y potasio. (2)

Absorción y eliminación: la mayoría de los derivados barbitúricos se absorben por vía oral, salvo la forma soluble que se utiliza por vía parenteral, se excretan por vía renal, intactos o bien disociados en sus núcleos constitutivos.

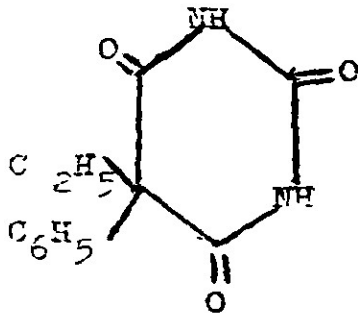
Acción tóxica: en relación con la cantidad dosificada, se considera una acción sedante (dosis menores) una hipnótica (dosis medias) y una anestésiante (dosis altas); las dosis altas o masivas, producen junto con la anulación del sensorio (coma), la perturbación profunda de las funciones vegetativas. (2)

FENOBARBITAL

5-etil-5-fenilbarbitúrico

$C_{12}H_{12}N_2O_3$

Peso molecular 232.2



Sinónimos: fenobarbitan, feniletilmalonilurea, luminol, agrypnal, barbenil, fenemal.

Polvo blanco cristalino. Punto de fusión 174° a $177^{\circ}C$. Soluble uno en mil partes de agua, uno en quince de etanol, uno en cuarenta de éter y uno en cincuenta de cloroformo.

Metabolismo: el fenobarbital es un barbitúrico de acción prolongada. El principal metabolito es el derivado para-hidroxí, 5-etil-5-para-hidroxi-fenilbarbitúrico cerca del cincuenta por ciento es conjugado, menos que el diez por ciento sin embargo, como el glucurónido. El resto, se viensa es conjugado como el sulfato etéreo.

Dosis: arriba de 120 mg; máximo en 24 horas, 600 mg.

Toxicidad: la dosis letal mínima estimada en el hombre es de 1.5 gr. Nivel en sangre de 5 mg% en casos de envenenamiento fatal. (4)

Identificación mediante reacciones químicas con desarrollo de color (pruebas presuntivas).

a) Etanol-CO $(C_2H_3O_2)_2$ -LiOH (Zwikker): desarrollo de color azul.

Procedimiento : agregar una pequeña cantidad de muestra a 0.5 ml del reactivo correspondiente y observar el color desarrollado.

Pruebas microcristalinas: colocar una pequeña cantidad de la sustancia problema sobre un portaobjetos y agregar muy próximas una de otra, una gota del reactivo, utilizando tubos capilares. Mover ligeramente el portaobjetos hasta poner en contacto las dos gotas y observar al microscopio mediante objetivo seco débil, los cristales formados.

Con el reactivo de acetato cúbrico amoniacal a temperatura ambiente se forman inmediatamente prismas hexagonales de color azul, altamente birrefringentes (130 a 200 μ). (5)

METAQUALONA

La metaqualona fué introducida al mercado médico americano, en 1965 para el tratamiento de insomnio y ansiedad. La superpublicidad en jornadas médicas por fabricantes farmacéuticos y promoción por vendedores de drogas, acentuaron que la metaqualona era un hipnótico no barbitúrico con deficiente - abuso potencial y solamente raros incidentes de dependencia física. La metaqualona fué ampliamente prescrita por médicos, en gran parte por su creencia que era un hipnótico sedativo - con nada del potencial de abuso en comparación con la breve - acción de barbitúricos.

Inevitablemente, la metaqualona fué probada por aquellos individuos que buscaban un mejor "viaje". El conocimiento de la droga se difundió por todo el país, ayudado a lo largo por la publicidad entre los jóvenes, a lo largo de toda la nación y por artículos que enaltecieron las cualidades de la intoxicación por metaqualona. (25)

Básicamente, intoxicaciones por metaqualona son similares a intoxicaciones por barbitúricos o alcohol, y el individuo está sujeto al mismo riesgo: muerte por sobredosis, accidentes debidos a confusiones y daños por coordinación motora, llegando al punto de adicción por aumento de la droga. Del mismo modo, que la tolerancia a los barbitúricos, la tolerancia a los efectos de la intoxicación por metaqualona ocasionó el desarrollo más rápido de la tolerancia a la dosis letal. Acontecieron muertes con la ingestión de 8 gramos en individuos intolerantes. Sobredosis con metaqualona producen, coma, espasmos musculares, convulsiones, y hemorragias debido a interferencia con coagulación de sangre. La retirada de la dependencia de metaqualona acarrea aproximadamente los mismos riesgos que el retiro de la breve acción de los barbitúricos.

En 1973, el segundo reporte de la comisión Nacional de marihuana y drogas de abuso concluyó: "El riesgo potencial de metaqualona es aproximadamente equivalente al de los barbitúricos de acción corta". (24)

Ya que a diferencia de los barbitúricos, la metaqualona no tiene usos médicos en gran escala, y no presenta un significativo problema de abuso.

La metaqualona es algunas veces torada en combinación con vino, ésto es especialmente peligroso, sin embargo, como la metaqualona tiene un efecto combinado, cuando se toma con alcohol, haciendo efectos simultáneos de ambas drogas, semejantemente a los resultados en sobredosis. Tuvo especial favor provechoso con individuos enfermos con mantenimiento programado de metadona por el "alto aditivo" que produce la droga combinada. En adición la metaqualona es difícil de detectar en muestras de orina. (25)

Durante 1963 a 1966 un estudio de adictos a droga en hospitales para enfermos mentales en Japón, mostró que el 42.8% eran adictos a metaqualona. La primera razón para el ingreso al hospital fué, un comportamiento violento asociado con el abuso de metaqualona. El retiro causa convulsiones en un 7% de los adictos, y el 9% manifiesta síntomas de delirio. (17)

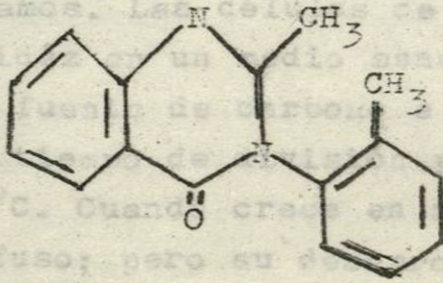
Recientemente aparecieron evidencias de que los fabricantes de tabletas introdujeron por diversión tabletas o cápsulas de metaqualona pura. Sidney Scholl reportó que encontró dos muestras de cápsulas anaranjadas como "mandrakes" (nombre común del producto Mandrax, que contiene metaqualona y difenidramina, un antihistamínico), conteniendo arriba de 200 mg de clorhidrato de metaqualona pura. (31)

METAQUALONA SOLI

3,4-dihidro-2-metil-4-oxo-3-orto-tolilquinazolinona

$C_{16}H_{14}N_2O$

Peso molecular 250.3



Sinónimos: QZ 2, TR 495, Tuazolón, Dormutil, Omyl, Qualude, Sopor, Optimil. Parest, Mandrax.

Polvo blanco cristalino. Punto de fusión cerca de 115°C . Insoluble en agua, soluble en etanol, éter y cloroformo.

Metabolismo: la metaqualona es absorbida rápidamente desde el tracto gastrointestinal. Es concentrada principalmente en el hígado y cuerpo graso.

La ingestión diaria de 500 mg de metaqualona da un nivel en sangre de 0.5 mg%.

Dosis: 300 mg como hipnótico.

Toxicidad: un nivel en plasma de 3 mg% corresponde a la ingestión de 5 gramos de metaqualona, es indicativo de peligro de envenenamiento, o menor en aquellos que no están habituados a la droga (Lewson y Brown, 1966). (5)

La identificación por el método espectrofotométrico da una concentración de droga en suero de 2 a 5 g/ml. (14)

ESCHERICHIA COLI

Organismo aerobio, gramnegativo, incluido en el grupo de los bacilos coliformes, familia Enterobacteriaceae, posee un bajo grado de patogenicidad para el hombre.

Se encuentra típicamente en el tracto intestinal del hombre. La célula madura es una varilla cilíndrica de 1 a 3 μ de longitud y de 0.4 a 0.6 μ de diámetro, su peso es alrededor de 2×10^{-12} gramos. Las células de Escherichia coli se desarrollan con rapidez en un medio sencillo que contenga solamente glucosa como fuente de carbono e iones amonio como fuente nitrogenada. El tiempo de división puede ser tan corto como 20 minutos a 37°C. Cuando crece en medio líquido produce enturbiamiento difuso; pero su desarrollo en condiciones subóptimas, puede formar cadenas largas filamentosas y originar un crecimiento granular. Muchas células poseen flagelos y son móviles. En agar, las colonias de cepas lisas son brillantes, convexas e incoloras; pero cuando tales ce as se resiembran repetidamente en medios artificiales, se vuelven rugosas y determinan la formación de colonias mates y granujientas. Las variantes encapsuladas producen colonias mucoides, en especial cuando se incuban a bajas temperaturas, y crecen en medio pobre en nitrógeno y fósforo, pero rico en carbohidratos. Algunas cepas son hemolíticas, y en medio sólido despiden un olor fétido característico.

La pared celular contiene una armadura rígida constituida por cadenas polisacáridas entrecruzadas por cadenas peptídicas cortas. Los intersticios están rellenos de lipopolisacáridos gomosos. La pared impide el hinchamiento de las bacterias cuando se hallan en un medio hipotónico. Es porosa y permite el paso de la mayoría de las moléculas pequeñas.

Las membranas están constituidas por cerca de un 45% de lípidos y un 55% de proteínas, dispuestas posiblemente en capas. Los plegamientos de las membranas reciben el nombre de mesosomas. Es tórno semipermeable que permite que el agua

atraviere libremente. Las enzimas de la respiración y fosforilación y las de síntesis de la pared se hallan localizadas en la membrana.

Los flagelos son prolongaciones sobre la superficie de la bacteria, son órganos de locomoción; el flagelo es un polímero de la flagelina (proteína) que tiene un peso molecular de 40 000. La *Escherichia coli* posee fimbrias o vilis, cuya función es la transferencia cromosómica durante la conjugación bacteriana.

La *Escherichia coli* contiene cerca de 15 000 ribosomas, centros de síntesis; cada uno de ellos posee una subunidad principal y otra menor, cada subunidad contiene cerca del 65% de RNA y un 35% de proteínas. El RNA mensajero se une a las ranuras entre las subunidades. En la *E. coli*, los gránulos de reserva contienen glucosa, un polímero de la glucosa. Cuando se necesitan como combustible, éstos polímeros se degradan enzimáticamente produciendo glucosa o ácido β -hidroxibutírico, libres.

El citosol es relativamente uniforme, carece de estructura y posee elevada viscosidad; la concentración de proteínas es muy elevada, más del 20%. El citosol contiene muchas de las enzimas, así como intermediarios metabólicos y sales inorgánicas.

En el interior de la membrana plasmática, además del citoplasma encontramos el núcleo o nucleoide. El nucleoide está constituido por DNA no asociado a proteínas. Cada nucleoide está formado por un filamento circular de DNA que se presenta enrollado. El DNA del nucleoide de la *Escherichia coli* tiene un peso molecular de 0.2 a 2.5×10^9 gramos, suficiente para codificar de 2 000 a 3.000 de peso medio. (7,23)

M E T O D O L O G I A

I) Ceba de Escherichia coli.

AISLAMIENTO

Para el aislamiento de la cepa bacteriana de Escherichia coli, se tomó una muestra de excremento de una persona sin ningún tipo de trastornos digestivos, con las medidas adecuadas para prevenir una posible contaminación de la muestra; de ésta se tomaron varias asadas para suspenderlas en un tubo de ensaye conteniendo un medio líquido de purificación llamado Agar Tetracionato, incubando a 37°C durante 24 horas.

Preparación de Agar Deshidratado Tetracionato

Para rehidratar el medio, suspender 4.6 gramos en 100 ml de agua destilada fría y calentar a ebullición. Enfriar a 60°C, añadir 2 ml de solución de yodo, distribuir en tubos diferentes.

Preparación de la solución de yodo: se disuelven 6 gramos de cristales de yodo y 5 gramos de yoduro de potasio en 20 ml de agua destilada. Esta solución es para usarse el día de su preparación. (9)

PURIFICACION

Se tomó una asada del tubo conteniendo la muestra suspendida en agar tetracionato, después de haber sido incubada 24 horas a 37°C, sembrando por estria en medio EMB, se incubó a 37°C durante 24 horas. Del crecimiento obtenido se hicieron varias resiembras con el objeto de obtener una cepa pura de Escherichia coli.

Preparación del medio EMB

Rehidratar 36 gramos del medio de cultivo en 1000 ml de agua destilada. Calentar a ebullición para disolver el medio por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C, durante 15 minutos. La esterilización reduce el azul de metileno, cambiando el medio a color naranja. El color púrpura reaparece agitando suavemente. Enfriar a una temperatura de 45°C y vaciar en cajas de petri estériles hasta solidificar. (9)

CONSERVACION

Para la conservación de la cepa se utilizó Agar Soya Trypticaseína, medio de conservación para que la bacteria no sufra cambios ni envejecimiento, colocándolo en tubos de ensaye estériles. Tomando una asada del cultivo puro de EMB, se hizo la resiembra a agar soya tripticaseína, posteriormente las resembras se efectuaron cada 8 días con el objeto de conservar la cepa y disponer de ella en el momento necesario.

Preparación del medio Agar Soya Trypticaseína

Suspender 40 gramos en 1000 de agua destilada, mezclar bien calentar agitando frecuentemente y dejar hervir durante un minuto, después de que se haya disuelto, esterilizar en autoclave a 118-121°C durante 15-20 minutos. (9)

II) Drogas

De las tres drogas utilizadas en la investigación, la mezcalina (principio activo de Lophophora williamsii) fué extraída por nosotros en el laboratorio, la metaqualona y el fenobarbital se consiguieron en el mercado farmacéutico.

EXTRACCION

1.- Picar el cactus de Lophophora williamsii finamente, colo-

- cándolo en un mortero para posteriormente efectuar su molienda completa, pasando el contenido a un papel filtro - previamente tarado, dejándolo secar completamente al sol.
- 2.- Ya seco, pesarlo junto con el papel, hacer un cartucho, - de manera que no se tire la muestra, procediendo a la extracción con 130 ml de cloroformo en un aparato Soxlet, - dejándolo sifonear 10 veces.
 - 3.- Tomar 50 ml del extracto clorofórmico colocándolos en un embudo de separación, agregar 25 ml de éter de petróleo, 50 ml de agua destilada y 25 ml de metanol, agitar y dejar reposar para que se separen dos capas, una cloroformo-éter y otra metanol-agua, recoger por separado cada fase y repetir la operación hasta terminar con el extracto clorofórmico.
 - 4.- Evaporar por separado los extractos cloroformo-éter y metanol-agua y lavar con 5 ml de alcohol etílico cada vez durante 10 veces a bajas temperaturas.
Se recoge el principio activo con agua destilada. (5)

Obtenido el principio activo mezcalina, se identificó mediante reacciones químicas con desarrollo de color, agregando una pequeña cantidad de muestra a 0.5 ml del reactivo correspondiente y observando los colores desarrollados.

Reactivos:

- a) Acido sulfúrico-formaldehído (Marquís): desarrollo de color naranja.
- b) Acido nítrico (Vitali): desarrollo de color rojo tinto - que cambia a rosa pardo que se decolora. (5)

Teniendo el principio activo mezcalina, se preparó medio EMB con diferentes dosis de cada una de las drogas, éste procedimiento se detallará en el capítulo siguiente.

III) Cuantificación del material genético

HOMOGENIZACIÓN previa de las muestras

- 1.- Descongelar la muestra en hielo y volver a congelar, repetir ésta misma operación cuatro veces.
- 2.- Centrifugar a 10 000 rpm durante 10 minutos a -2°C .
- 3.- Tirar el sobrenadante, agregar 3 ml de buffer Hepes, agitar vigorosamente y volver a centrifugar. Repetir la misma operación tres veces.
- 4.- Agregar 4 ml de buffer Hepes, agitar y pasar al homogenizador, el cual estará previamente colocado en hielo. Homogenizar durante 3 minutos a 5 000 rpm.

Una vez homogenizadas las muestras, separar en diferentes tubos de ensaye alícuotas de 1 ml para la extracción de DNA, RNA y proteínas totales.

Composición de buffer Hepes:

Hepes 50 mM

glutathion 3 mM

sacarosa 0.25 mM

cloruro de magnesio 5 mM

cloruro de potasio 100 mM

Ajustar el pH a 7.3 con KOH 0.1 N.

DETERMINACION DE RNA Y DNA EN HOMOGENATOS

Método de Munro y Fleck A. (26)

Método de la difenilamina de Burton. (11)

	BCO	MUESTRA	STANDARD
1) Muestra (homogenato)	-	1.0 ml	-
2) Buffer	1.0 ml	-	-
3) Standard (dil. mg/ml)	-	-	1.0
4) APC 0.6 N (en hielo)	0.5 ml	0.5 ml	0.5

Agitar y dejar reposar 15 minutos en hielo, centrifugar a

DETERMINACION DE PROTEINAS TOTALES

Método de Lowry, Rosebraugh, Farr y Randall. (20)

Soluciones:

Composición:

A	Na ₂ CO ₃ al 2% en NaOH 0.1N
B	Tartrato de Na y K al 2%
C	Sulfato de cobre al 1%
E	1 volumen de solución B 1 volumen de C.
F	0.2ml de solución E por cada 10 ml de A.
G	1 ml de reactivo de Fenol Folin ciocalten 1.366 ml de agua destilada.

Se toman 0.05 ml de muestra medidas con pipetas micro, para mayor exactitud y se diluye a completar un volumen de 10 ml con agua destilada, se mezcla bien y se toma 1 ml para desarrollar la reacción; se añaden 4 ml de solución F agitando vigorosamente y se deja reposar durante 10 minutos a temperatura ambiente. Luego se agrega 0.5 ml de solución G agitando igualmente de una manera vigorosa y se deja reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente, se lee a 660 nm el blanco lleva agua destilada en lugar de muestra.

II) Drogas

Teniendo el principio activo mezcacina, además del Fenobarbital y la metaqualona, se preparó medio MB con diferentes dosis de cada una de las drogas, para establecer una dosis mínima y máxima de resistencia.

Las dosis establecidas fueron:

	Mínima	Máxima
Metaqualona	0.05 g%	0.4 g%
Fenobarbital	0.05 g%	0.4 g%
Mezcacina	0.05 g%	0.1 g%

D I S E Ñ O E X P E R I M E N T A L

La secuencia con que se llevó a cabo el trabajo experimental, se detalla a continuación:

I) Cepa de Escherichia coli:

Para el aislamiento de la cepa bacteriana se tomó una muestra de excremento de una persona sin ningún tipo de trastornos digestivos, una asada y se resuspendió en el medio líquido de purificación llamado agar tetracionato, incubándose a 37°C durante 24 horas. De ahí se tomó una asada para sembrarla por estría en medio EMB, incubándose a 37°C durante 24 horas. Del crecimiento obtenido se hicieron varias resiembras con el objeto de obtener una cepa pura de Escherichia coli.

El aislamiento y purificación de la cepa bacteriana de Escherichia coli se comprobó efectuando pruebas bioquímicas, las cuales son características para cada bacteria. Los medios que se utilizan son a base de carbohidratos y otras sustancias bioquímicas, en donde se identifica a la bacteria por el resultado del metabolismo de los carbohidratos para producir distintas sustancias que incluyen gases (CO₂ y H₂), alcoholes y ácidos grasos.

II) Drogas

Teniendo el principio activo mezcalina, además del fenobarbital y la metaqualona, se preparó medio EMB con diferentes dosis de cada una de las drogas, para establecer una dosis mínima y máxima de resistencia.

Las dosis establecidas fueron:

	Mínima	Máxima
Metaqualona	0.05 g%	0.4 g%
Fenobarbital	0.05 g%	0.4 g%
Mezcalina	0.05 g%	0.1 g%

A) Para verificar la ingestión de las drogas por las bacterias se llevaron a cabo reacciones químicas específicas para cada una de las diferentes drogas, así como también en el medio de cultivo.

Para identificar mezcalina: reactivo de Marquis (ác. sulfúrico-formaldehído), desarrollo de color naranja.

Para identificar fenobarbital: reactivo de Zwikker (etanol $\text{CO}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 - \text{LiOH}$), desarrollo de color azul.

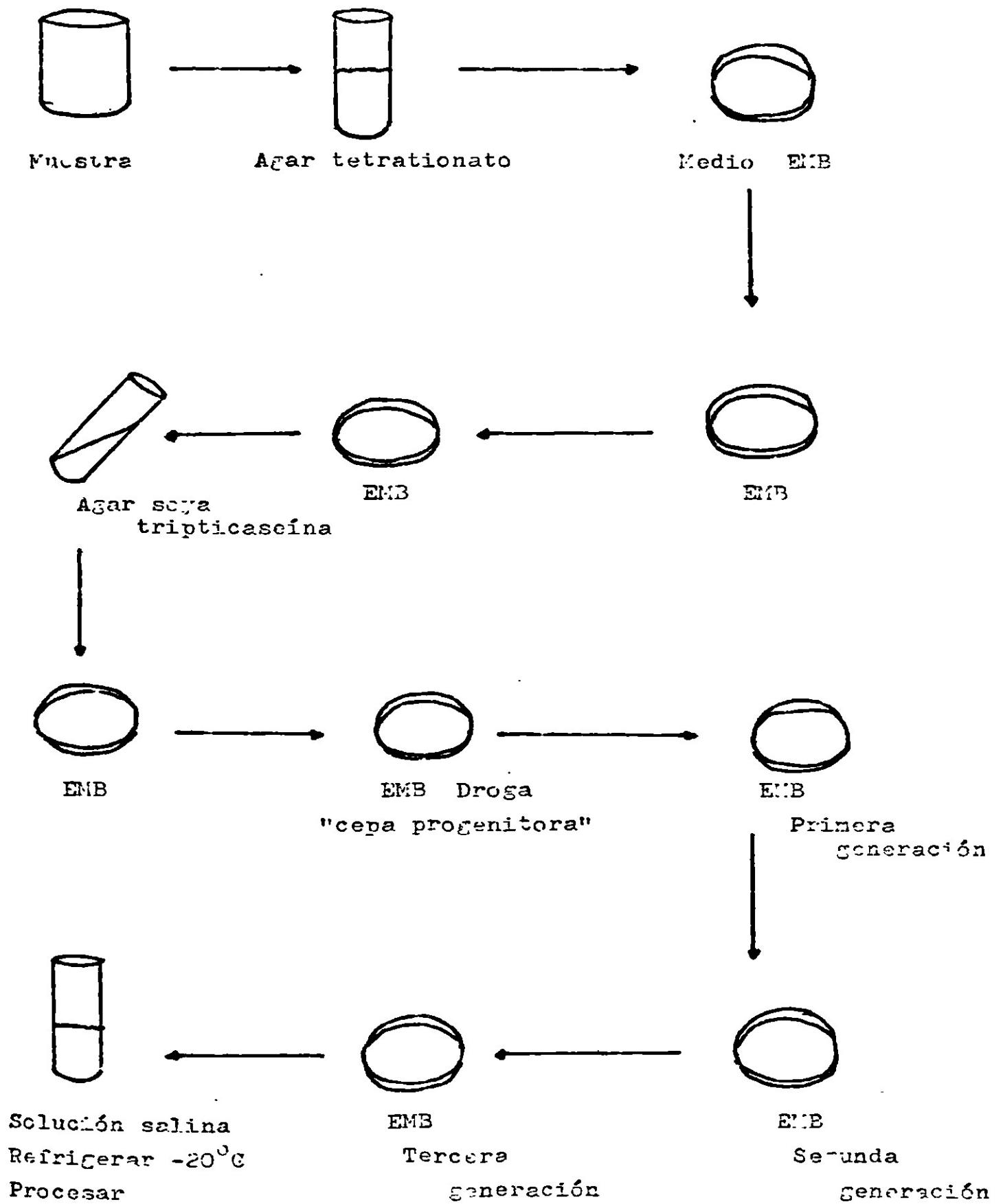
De la siguiente manera: tomando una asada del cultivo de bacterias y suspendiéndolas en agua destilada estéril, así como también tomando una pequeña porción del medio de cultivo y suspendiéndola también en agua destilada estéril, añadiendo el reactivo para que se lleve a cabo la reacción y el correspondiente desarrollo de color.

B) Una vez establecidas las dosis, se procedió de la siguiente manera: tomando una asada del cultivo puro de *Escherichia coli* y se resembró en medio EMB conteniendo cada una de las dosis y drogas por separado, obteniéndose así la cepa progenitora expuesta después de 24 horas de incubación, de la cual se hicieron las resiembras correspondientes para obtener la primera, segunda y tercera generación, después de 24 horas a 37°C cada generación, éstas últimas sin añadir en el medio de cultivo la droga.

C) La recolección de las cepas bacterianas se llevó a cabo en solución isotónica y guardadas a temperatura de -20°C , con el objeto de conservar y mantener las células, evitándose así la degradación del material genético y proteínas, el cual fué cuantificado posteriormente.

III) Determinación de RNA, DNA y proteínas totales.

Siguiendo las técnicas mencionadas en el capítulo anterior.



R E S U L T A D O S

- 1.- El primer resultado fué el aislamiento de una cepa pura de lo cual se estuvo seguro, no solamente por las características físicas y el medio de cultivo utilizado, sino - como ya se ha mencionado, se comprobó con pruebas bioquímicas. Resultando específicas para *Escherichia coli*:

Glucosa	Lactosa	Citrato	Motilidad	Gas	H ₂ S	Indol	Urea
+	+	-	+/-	+	-	+	-

- 2.- Obtuvimos también del peyote, un extracto del que podemos asegurar que en mayor porcentaje fué mezcalina, ésto se comprobó con reacciones químicas para la detección de mezcalina, dando resultados positivos con una intensidad muy clara.

En lo que respecta a fenobarbital y metaqualona, como ya se ha mencionado, se consiguieron en el mercado farmacéutico, realizándose también reacciones químicas para su reconocimiento. (Ver Metodología)

- 3.- Con las diferentes drogas, se estableció una dosis mínima y máxima de resistencia, atendiendo a las siguientes observaciones: la dosis máxima se fijó en el momento en el cual las colonias de *Escherichia coli* presentaron una inhibición del crecimiento y se observaron además cambios físicos, de coloración. La dosis mínima se obtuvo cuando a las 6 u 8 horas, el medio de cultivo estuvo agotado de la droga, lo cual se verificó realizando pruebas químicas específicas para cada una de las drogas, tanto en el medio de cultivo como en las bacterias, de la manera como se menciona en el capítulo de Diseño Experimental. En la dosis máxima, la droga se agotaba hasta el período de resiembra o sea, a las 2- horas.

- 4.- Antes de la recolección de la cepa se observó que no había diferencias morfológicas visibles en la colonia y no hubo inhibición de crecimiento aparente, exceptuando en la tercera generación de *Escherichia coli* proveniente de la cepa añadida de metesqualona en la dosis máxima, en la que se observó cambio de color de verde metálico a rosa y el aspecto de las colonias granujientas.
Como ya hemos mencionado, se recolectó toda la generación bacteriana contenida en la caja de petri y éstas bacterias fueron resuspendidas en 4 ml de solución isotónica.
- 5.- Los resultados obtenidos de las dosificaciones de material genético y proteínas totales en cada una de las generaciones y cada una de las dosis y drogas administradas se observan en la tabla 1.
- 6.- El número de bacterias se obtuvo teniendo como referencia que 10μ de DNA equivalen a 10^6 células. (3)
- 7.- Para hacer las valoraciones de los resultados obtenidos, se utilizó el método estadístico de la t de Student para muestras no pareadas. (10,23)
- 8.- En las siguientes gráficas se muestran las diferencias estadísticas entre los valores correspondientes a una cepa "progenitora" expuesta a una dosis mínima o máxima de droga contra su respectivo control. Cuando se ensayaron generaciones sucesivas obtenidas a partir de la cepa "progenitora" pero donde éstas generaciones sucesivas ya no tuvieron exposición a drogas, el control utilizado consistió también en una mezcla de la primera, segunda y tercera generación obtenidas a partir de una cepa original no expuesta.

T A B L A 1

	10^6 cel/ml	mgRNA/ 10^6 cel.	mgProt/ 10^6 cel.	RNA/DNA	Prot/RNA	Prot/DNA
Cepa control Progenitora.	$\bar{x} = 26.40$	0.0293	0.0770	2.9359	2.5269	7.6974
1a, 2a, y 3a, generación cepa control	$\bar{x} = 13.73$	0.0227	0.0600	2.2767	2.6379	6.0056
Progenitora expuesta a 0.05mg Metaqualona/ml.	$\bar{x} = 35.90$ tS = 15.6065 p<0.001	0.0176 23.6730 p<0.001	0.0441 9.5088 p<0.001	1.7674 23.4328 p<0.001	2.5081 0.8353 p<0.5	4.4145 9.4311 p<0.001
Primera generación.	$\bar{x} = 49.70$ tS = 6.0064 p<0.001	0.0185 2.1305 p<0.05	0.0605 0.3475 p<0.7	1.8501 2.1882 p>0.05	3.3445 2.4456 p<0.05	6.0502 0.3085 p<0.7
Segunda generación.	$\bar{x} = 52.53$ tS = 11.2624 p<0.001	0.0179 7.9938 p<0.001	0.0569 3.6661 p<0.01	1.7882 7.7418 p<0.001	3.1956 4.5255 p<0.001	5.6969 3.7121 p<0.01
Tercera generación.	$\bar{x} = 74.39$ tS = 13.7294 p<0.001	0.0135 9.0461 p<0.001	0.0581 0.8586 p<0.5	1.3212 8.8013 p<0.001	4.4699 4.5356 p<0.001	5.8116 0.8796 p<0.4
Progenitora expuesta a 0.4 mg Metaqualona/ml.	$\bar{x} = 32.14$ tS = 3.1060 p<0.01	0.0164 23.7326 p<0.001	0.0666 2.9896 p<0.02	1.6469 23.9631 p<0.001	4.0702 8.1477 p<0.001	6.6593 2.9575 p<0.01
Primera generación.	$\bar{x} = 83.58$ tS = 35.3433 p<0.001	0.0142 44.7013 p<0.001	0.0567 7.5514 p<0.001	1.4251 40.3379 p<0.001	3.9859 15.9703 p<0.001	5.6776 7.2095 p<0.001
Segunda generación.	$\bar{x} = 69.61$ tS = 23.5151 p<0.001	0.0138 18.4687 p<0.001	0.0547 3.6806 p<0.001	1.3844 17.7324 p<0.001	3.9628 9.0572 p<0.001	5.4692 8.4299 p<0.001
Tercera generación.	$\bar{x} = 30.21$ tS = 4.2011 p<0.01	0.0250 1.2832 p<0.3	0.1132 8.6489 p<0.001	2.5047 1.2761 p<0.3	4.6026 3.8077 p<0.01	11.3141 8.6258 p<0.001

t de STUDENT. -
$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s} \sqrt{N - 1} = \frac{\bar{X} - \mu}{s/\sqrt{N}}$$

donde: N = número de muestra
 \bar{X} = media muestral
s = desviación típica muestral
 μ = población normal
p > 0.05 no significativos.

	<u>10⁶ cel./ml</u>	<u>mgRNA/10⁶ cel.</u>	<u>mgProt/10⁶ cel.</u>	<u>RNA/DNA</u>	<u>Prot/RNA</u>	<u>Prot/DNA</u>
Cepa control Progenitora.	$\bar{x} = 26.40$	0.0293	0.0770	2.9359	2.6269	7.6934
1a, 2a, y 3a, generación cepa control	$\bar{x} = 13.73$	0.0227	0.0609	2.2767	2.6379	6.0056
Progenitora expuesta a 0.05mg Fenó barbital/ml	$\bar{x} = 38.26$ tS = 6.1938 p<0.001	0.0155 18.8383 p<0.001	0.0576 5.4237 p<0.001	1.5596 18.8246 p<0.001	3.7563 5.3312 p<0.001	5.7660 5.3672 p<0.001
Primera generación.	$\bar{x} = 70.49$ tS = 14.6526 p<0.001	0.0114 20.8821 p<0.001	0.0504 3.6499 p<0.01	1.1464 21.7437 p<0.001	4.4124 8.4625 p<0.001	5.0469 3.6819 p<0.01
Segunda generación.	$\bar{x} = 72.49$ tS = 10.0938 p<0.001	0.0103 20.6507 p<0.001	0.0492 2.7392 p<0.02	1.0326 21.0882 p<0.001	4.8296 3.9163 p<0.01	4.9197 2.7366 p<0.02
Tercera generación.	$\bar{x} = 79.79$ tS = 9.3208 p<0.001	0.0140 9.0868 p<0.001	0.0533 2.2879 p<0.02	1.4007 9.1898 p<0.001	3.8209 16.4149 p<0.001	5.3383 2.2933 p<0.02
Progenitora expuesta a 0.4 mg Fenó barbital/ml	$\bar{x} = 35.10$ tS = 5.7853 p<0.001	0.0103 51.1549 p<0.001	0.0693 1.9513 p<0.5	1.0307 51.0354 p<0.001	6.7492 16.5121 p<0.001	6.9398 1.9061 p<0.5
Primera generación.	$\bar{x} = 79.37$ tS = 6.0174 p<0.001	0.0150 5.3682 p<0.001	0.0552 0.8037 p<0.5	1.5077 5.3251 p<0.001	3.6567 20.7819 p<0.001	5.5283 0.7967 p<0.5
Segunda generación.	$\bar{x} = 51.99$ tS = 12.6640 p<0.001	0.0186 13.4304 p<0.001	0.0720 8.7009 p<0.001	1.8623 13.2268 p<0.001	3.8724 10.7018 p<0.001	7.2049 8.5290 p<0.001
Tercera generación.	$\bar{x} = 87.75$ tS = 20.1254 p<0.001	0.0134 68.6850 p<0.001	0.0546 4.0917 p<0.01	1.3432 71.9138 p<0.001	4.0642 17.2103 p<0.001	5.4596 4.2609 p<0.01

M E T A Q U A L O N A

En la Fig. 1, se presentan gráficamente los valores del número de células para las diferentes concentraciones de metaqualona ensayadas. Como se puede observar, la metaqualona favorece la división celular, de tal manera que la cantidad de bacteria aumenta; en una cepa de *Escherichia coli* expuesta a 0.05 mg/ml el aumento en los millones de células/ml es de un 35.98% con respecto al control ($p < 0.001$), mientras que una cepa expuesta a 0.4 mg de metaqualona/ml aumenta su división celular en un 21.74% con respecto al control sin droga ($p < 0.01$).

El cambio genético producido en las cepas expuestas, repercuten las generaciones posteriores aún cuando éstas no se expongan a la acción de la droga.

En la primera generación no expuesta a droga proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml, el aumento en el número de células fué de un 261.93% ($p < 0.001$), y en la primera generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml un aumento de un 508.74% con respecto al control generacional derivado de una cepa no expuesta, con un nivel de significancia de $p < 0.001$.

En la segunda generación no expuesta a la droga proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa un aumento del 282.59% ($p < 0.001$), mientras que en la generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml el aumento es de un 406.99% ($p < 0.001$) con respecto al control generacional sin droga.

En la tercera generación derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml de metaqualona el efecto persiste observándose un aumento en la división celular de un 441.80% con respecto a los valores del control generacional ($p < 0.001$), mientras que en la tercera generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml el efecto producido en la progenitora tiende a ser reversible, observándose un aumento de un 120.02%, esta diferencia es signi

ficativa con respecto al control generacional sin droga ($p < 0.01$).

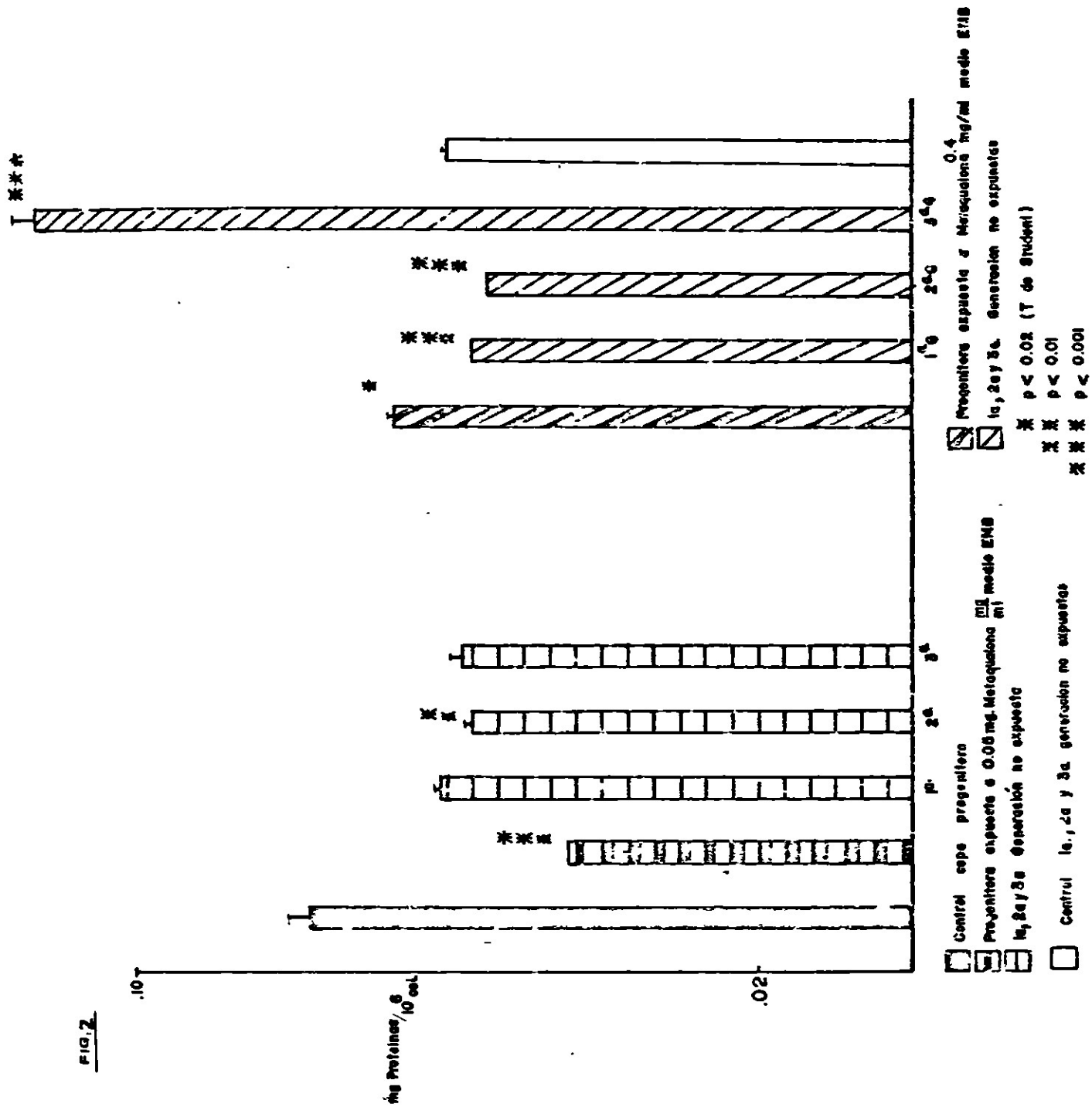
Efectos reversibles en la tercera generación solamente - fueron observados en la derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg de metaqualona /ml.

mg de Proteínas/ 10^6 células. En la Fig 2 se puede observar que la metaqualona ejerce un efecto directo en la cantidad de proteínas por millón de células, las proteínas se ven disminuídas en las cepas progenitoras expuestas a las dos dosis diferentes en un porcentaje de: 42.63% en la cepa progenitora expuesta a 0.05 mg/ml ($p < 0.001$), y en un 13.51% en la cepa progenitora expuesta a 0.4 mg/ml con respecto a los valores de la cepa control sin droga ($p < 0.02$).

El efecto ausado directamente en las progenitoras, se transmite a las generaciones siguientes aún cuando no se exponen a la droga. En la primera generación no expuesta a droga, derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa un ligero aumento de un 0.03 el cual no es significativamente estadístico, - mientras que en la generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml la disminución en la cantidad de proteínas es de un 5.5% con respecto al control generacional ($p < 0.001$). En la segunda generación no expuesta a droga derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml la disminución es de un 5.16% ($p < 0.001$), y de un 8.83 en la segunda generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml ($p < 0.001$).

El efecto producido en la cepa progenitora expuesta a 0.05 mg/ml continúa hasta la tercera generación derivada de ésta por lo que la cantidad de proteínas disminuye en un 3.16% con respecto al control generacional, esto no es estadísticamente significativo ($p < 0.5$) en tanto que en la tercera generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml se observa un aumento en la cantidad de proteínas/ 10^6 células de un 88.66 con respecto al control generacional, éste aumento que es estadísticamente

FIG. 2



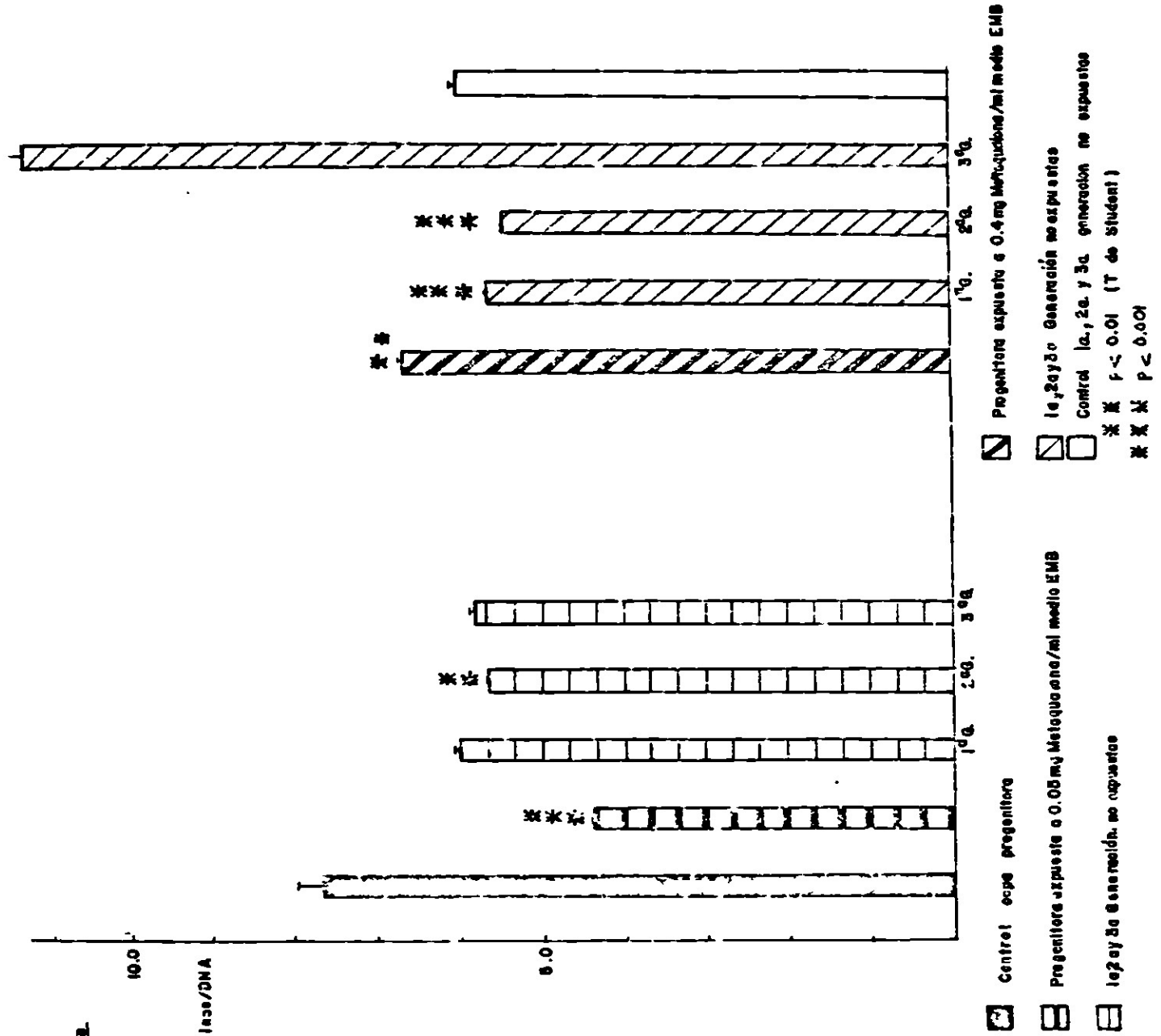
significativo ($p < 0.001$) nos indica claramente una reversión de los efectos causados inicialmente en la cepa progenitora.

Proteínas/ DNA. De igual manera que en la relación anterior las proteínas por bacteria se encuentran disminuidas debido al efecto que la metaqualona produce directamente en las cepas progenitoras expuestas, dicho efecto se transmite a las generaciones sucesivas como puede verse en la Fig. 3. Cuando una cepa de *Escherichia coli* es expuesta a una concentración de 0.05 mg/ml la cantidad de proteínas por bacterias disminuye significativamente en un 42.62 ($p < 0.001$), y en un 13.44% en la cepa expuesta a 0.4 mg de metaqualona /ml con respecto al control ($p < 0.01$). En la primera generación no expuesta a metaqualona pero proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml la disminución es de un 0.74, lo cual no es estadísticamente significativo ($p < 0.7$), en tanto que en la primera generación no expuesta proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml, la disminución es de un 5.46% con respecto a la cepa control generacional ($p < 0.001$).

En la segunda generación sin exposición a droga pero proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml la disminución de proteínas por bacteria es de 5.14% ($p < 0.01$) y de un 8.93% con respecto al control generacional en la segunda generación no expuesta pero derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg de metaqualona/ml ($p < 0.001$). Los efectos tienden a desaparecer en la tercera generación no expuesta a droga, proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml, por lo que se observa una disminución de proteínas de un 3.23% no significativo estadísticamente ($p < 0.4$), mientras que en la tercera generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml, se observa un aumento en la cantidad de proteínas de un 88.39% ($p < 0.001$) con respecto a la cepa control generacional, lo que nos muestra que en la tercera generación los efectos producidos en la progenitora, no sólo son reversibles sino que éste aumento en el contenido protéico por célula sugiere un efecto estimulante sobre el mismo.

FIG. 3

Proteínas/DNA

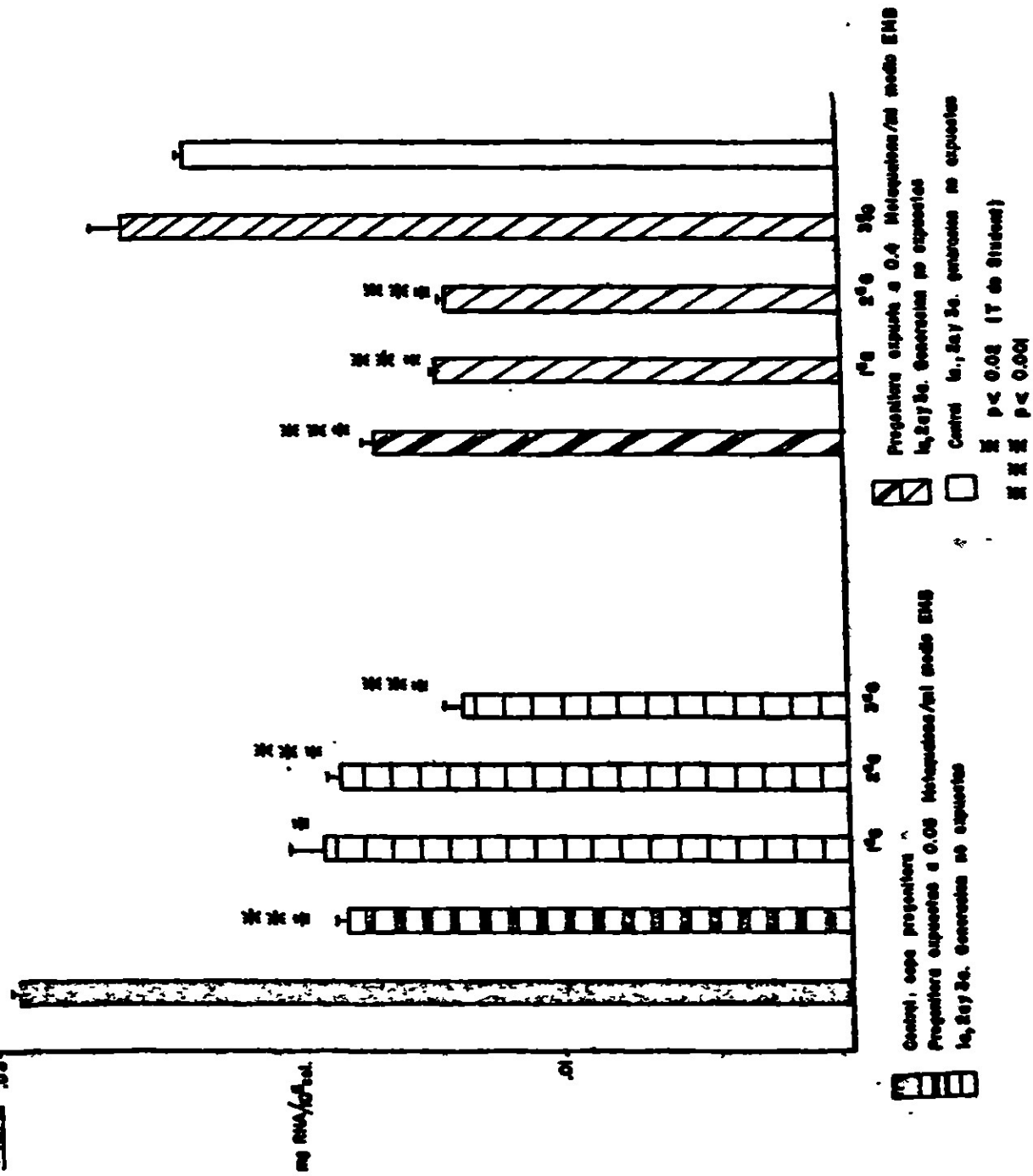


mg RNA/ 10^6 células. La cantidad de RNA por millón de células se encuentra directamente disminuida por acción de la metaquinalona cuando ésta es añadida a cepas progenitoras en concentraciones de 0.05 y 0.4 mg/ml de medio de cultivo como puede verse en la Fig. 4. La cantidad de RNA disminuye en un 39.93% en la cepa expuesta a 0.05 mg/ml ($p < 0.001$) y en un 44.03% en la cepa expuesta a 0.4 mg/ml con respecto a la cepa control sin droga ($p < 0.001$). Dicho efecto no es dosis dependiente y persiste en las generaciones sucesivas en las cuales la cantidad de ácidos ribonucleicos disminuye en un 18.50% ($p < 0.05$). En la primera generación no expuesta derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml y en un 37.44% ($p < 0.001$) en la primera generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml con respecto al control generacional. En la segunda generación derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa que la cantidad de RNA disminuyó en un 21.14% ($p < 0.001$), mientras que ésta misma generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml disminuyó en un 39.20% ($p < 0.001$) su cantidad de RNA/ millón de células.

En la tercera generación no expuesta a droga derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa una disminución de un 10.52% con respecto al control generacional ($p < 0.001$), en tanto que la tercera generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml se observa una tendencia a regresar a los valores de la cepa control, por lo que se presenta un aumento en la cantidad de RNA de un 10.13% con respecto al control generacional, éste aumento no es estadísticamente significativo ($p < 0.5$).

RNA/ DNA. Esta relación es importante ya que indica la cantidad de ácidos ribonucleicos por bacterias, los resultados que se muestran en la Fig. 5 indican que la metaquinalona ejerce un efecto en las cepas progenitoras expuestas a las dosis ensayadas, provocando una disminución que no es dosis dependiente, y además el efecto es transmisible a las generaciones sucesivas posteriores.

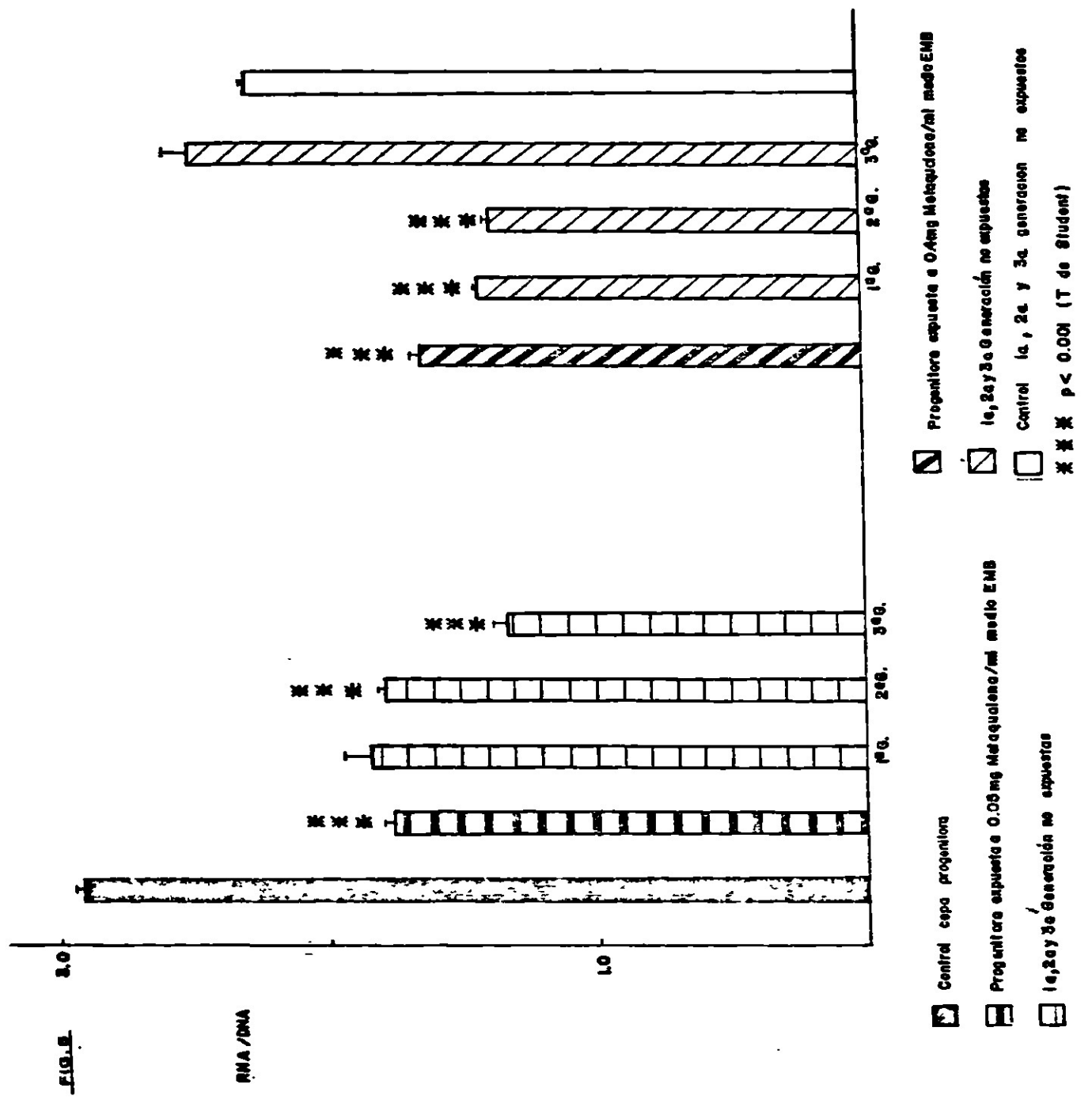
FIG. 5



En la cepa de *Escherichia coli* expuesta por primera vez a una dosis de 0.05 mg/ml, se observa una disminución de un 39.80% en el contenido de RNA con respecto al control ($p < 0.001$), en tanto que en la cepa expuesta a 0.4 mg/ml se observa una disminución del 43.90% con respecto al control sin droga ($p < 0.001$)

En la primera generación no expuesta a droga, derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa una disminución del 18.73% la cual no es significativa estadísticamente ($p > 0.05$) y de un 37.40% con respecto al control generacional, en la primera generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml ($p < 0.001$). En la segunda generación no expuesta a metaqualona, derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa una disminución en la cantidad de RNA/bacteria de un 21.45% con respecto al control generacional ($p < 0.001$), mientras que en la segunda generación no expuesta, derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml ésta disminución es de un 39.19% con respecto al control generacional ($p < 0.001$). En la tercera generación sin exposición a la droga y derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa una disminución de un 41.97% en la cantidad de RNA/bacteria con respecto al control ($p < 0.001$), mientras que en la tercera generación no expuesta a la droga pero derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml se observa un aumento de un 10.01% con respecto al control generacional, ésta elevación no es estadísticamente significativo, ($p < 0.3$). Esto indica una reversión de los efectos, los cuales sólo fueron observados en la generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml.

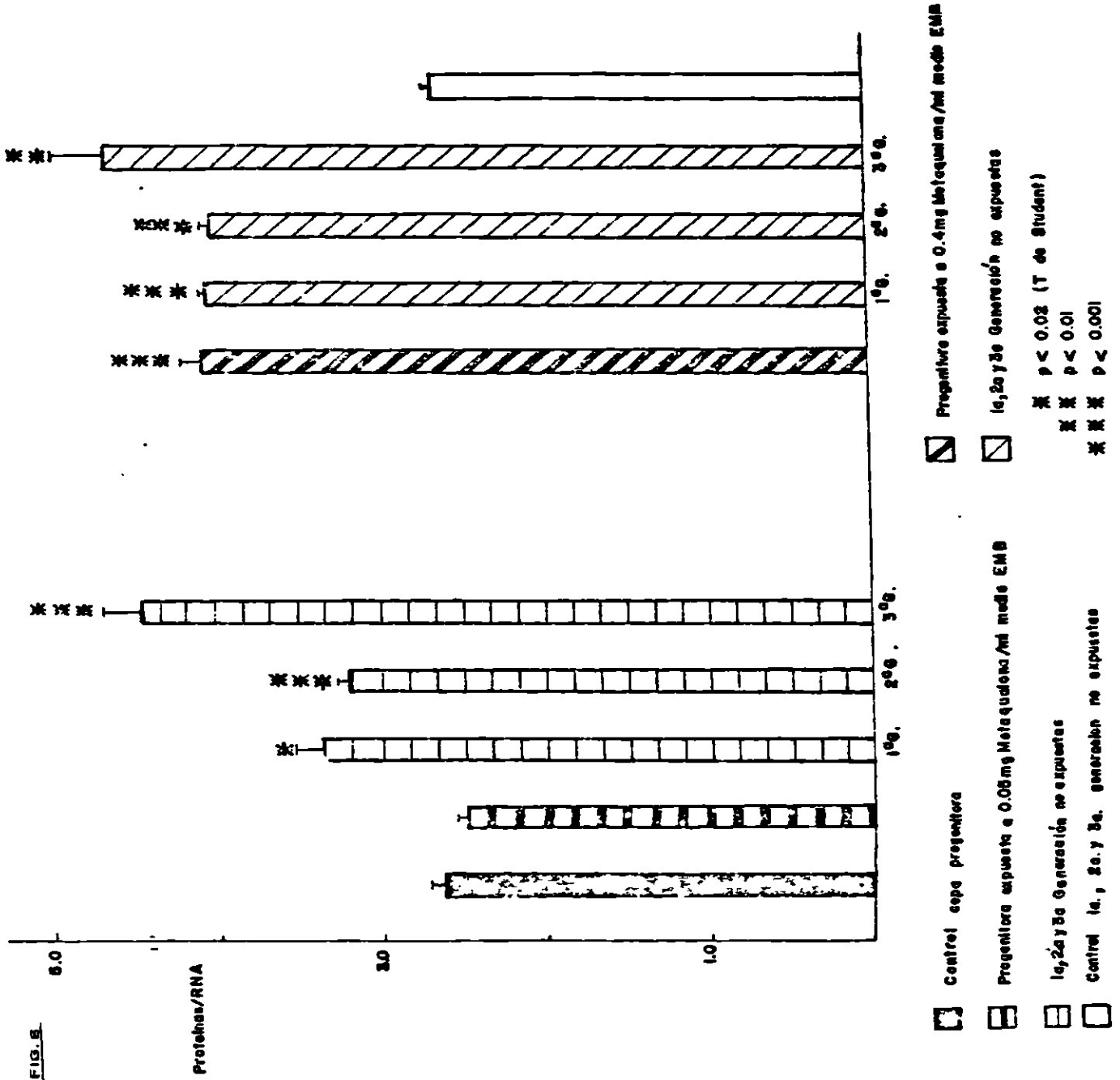
Proteínas/ RNA. En la Fig. 6 se muestra la eficiencia en la síntesis proteica dado por la relación proteínas/RNA. Como puede observarse la metaqualona no produce un efecto en la eficiencia de la síntesis proteica en las cepas expuestas por primera vez a una concentración de 0.05 mg/ml, la eficiencia



sintética se encuentra disminuida en un 4.52% con respecto al control, lo cual no es estadísticamente significativo ($p < 0.5$) El efecto en la eficiencia de síntesis protéica cuando una cepa de *Escherichia coli* es expuesta por primera vez a una concentración de 0.4 mg/ml es de aumento hasta un 54.94% con respecto a la cepa control sin droga ($p < 0.001$).

El cambio genético producido en las cepas progenitoras expuestas a la droga es transmitido a sus descendientes, mostrándose que la síntesis protéica se encuentra aumentada en todas las generaciones sucesivas ensayadas. En la primera generación no expuesta a droga derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa un aumento del 26.78% en la síntesis protéica con respecto al control generacional ($p < 0.05$), mientras que la primera generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml aumenta un 51.14% con respecto al control generacional sin droga ($p < 0.001$). En la segunda generación no expuesta a la acción de la metaqualona pero derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml el aumento es del 21.14% ($p < 0.001$) con respecto al control generacional, y la misma generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml presenta un aumento del 50.22% ($p < 0.001$) con respecto a los valores del control generacional sin droga. En la tercera generación, la tendencia a eficientar la síntesis de proteínas es aún mayor, observándose un aumento del 69.45% en la generación derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml ($p < 0.001$) y un aumento del 64.48% en la generación derivada de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml con respecto a los valores de la cepa control generacional sin droga ($p < 0.01$)

FIG. 5.



FENOBARBITAL

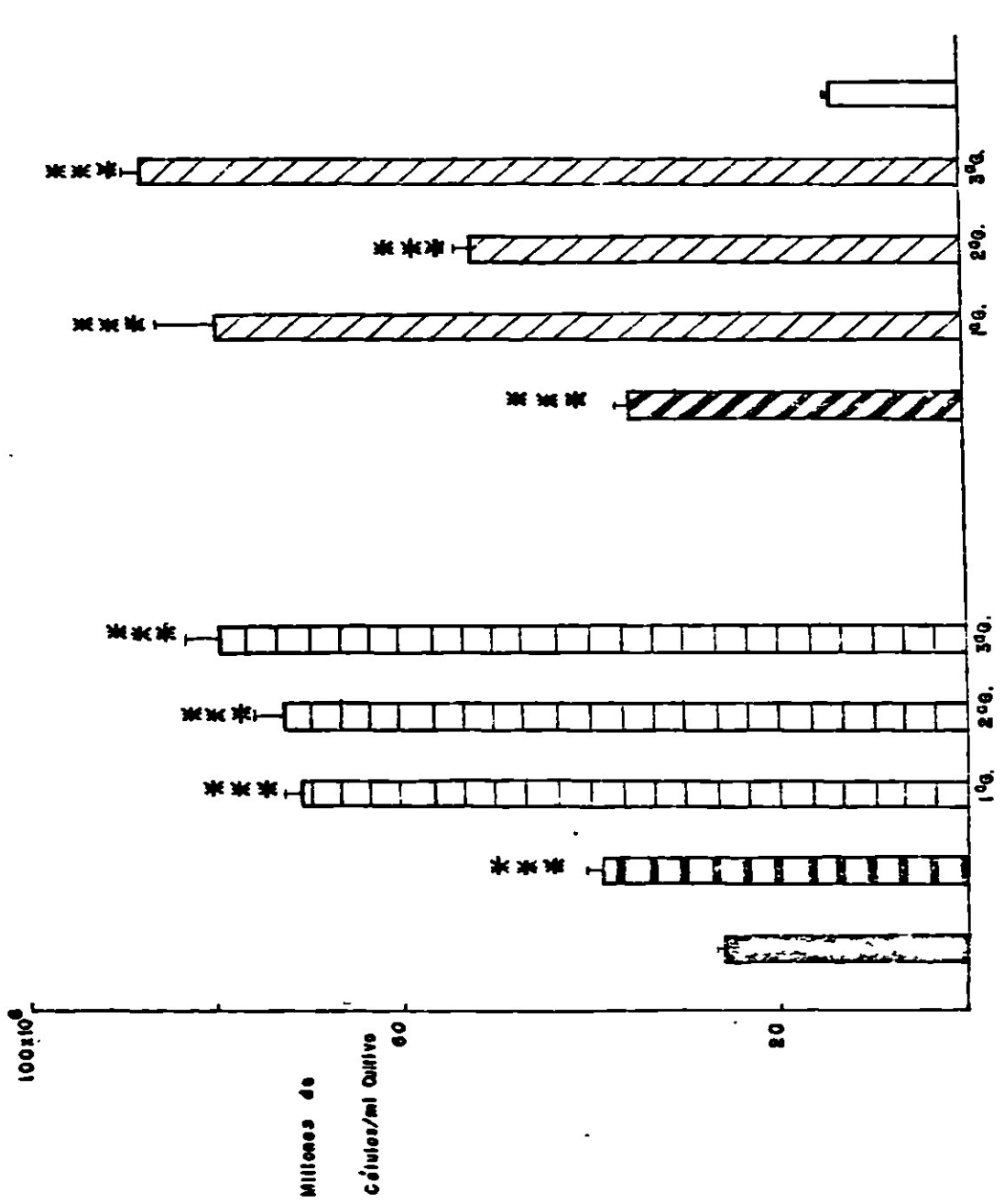
Millones de células/ml de cultivo. El fenobarbital en dosis de 0.05 y 0.4 mg/ml añadidos al medio de cultivo de la *Escherichia coli*, favorece la división celular, como puede observarse en la Fig. 7.

En la cepa progenitora de *E. coli* expuesta a 0.05 mg/ml se observa un aumento en la división celular del 44.92% ($p < 0.001$) con respecto al control sin droga, mientras que en la cepa progenitora expuesta a 0.4 mg/ml el aumento fué de un 32.95% ($p < 0.001$). En la primera generación, no expuesta a droga proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml el efecto producido por la droga persiste y se amplía, observándose un aumento en la división celular del 413.40% ($p < 0.001$) con respecto al control generacional, en tanto que en la primera generación no expuesta a droga proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml el aumento es del 478.07% ($p < 0.001$) con respecto al control. En la segunda generación no expuesta a droga, proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml el efecto continúa observándose un aumento del 427.96% ($p < 0.001$), y en la segunda generación no expuesta, proveniente de la cepa progenitora expuesta a 0.4 mg/ml el aumento es de un 278.66% ($p < 0.001$) con respecto al control generacional. El efecto producido a las cepas expuestas en las dos dosis diferentes de fenobarbital persiste en la tercera generación sin exposición a la droga, observándose un aumento del 481.13% ($p < 0.001$) en la generación proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml, y un aumento del 539.11% ($p < 0.001$) en la generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml, esto con respecto al control generacional sin droga.

Todos estos incrementos son significativos. La estimulación no es proporcional al aumento de la dosis de fenobarbital.

El fenobarbital estimula la división celular, debido probablemente entre otras causas a que es capaz de inducir la sin

FIG. 7



Control exp. progenitora
 Progenitora expuesta a 0.05mg Fenobarbital/ml medio EMB
 Progenitora expuesta a 0.4mg Fenobarbital/ml medio EMB
 Control 1ª, 2ª y 3ª generación no expuestas
 Control 1ª, 2ª y 3ª generación no expuestas
 $p < 0.001$ (T de Student)

tesis de proteínas.

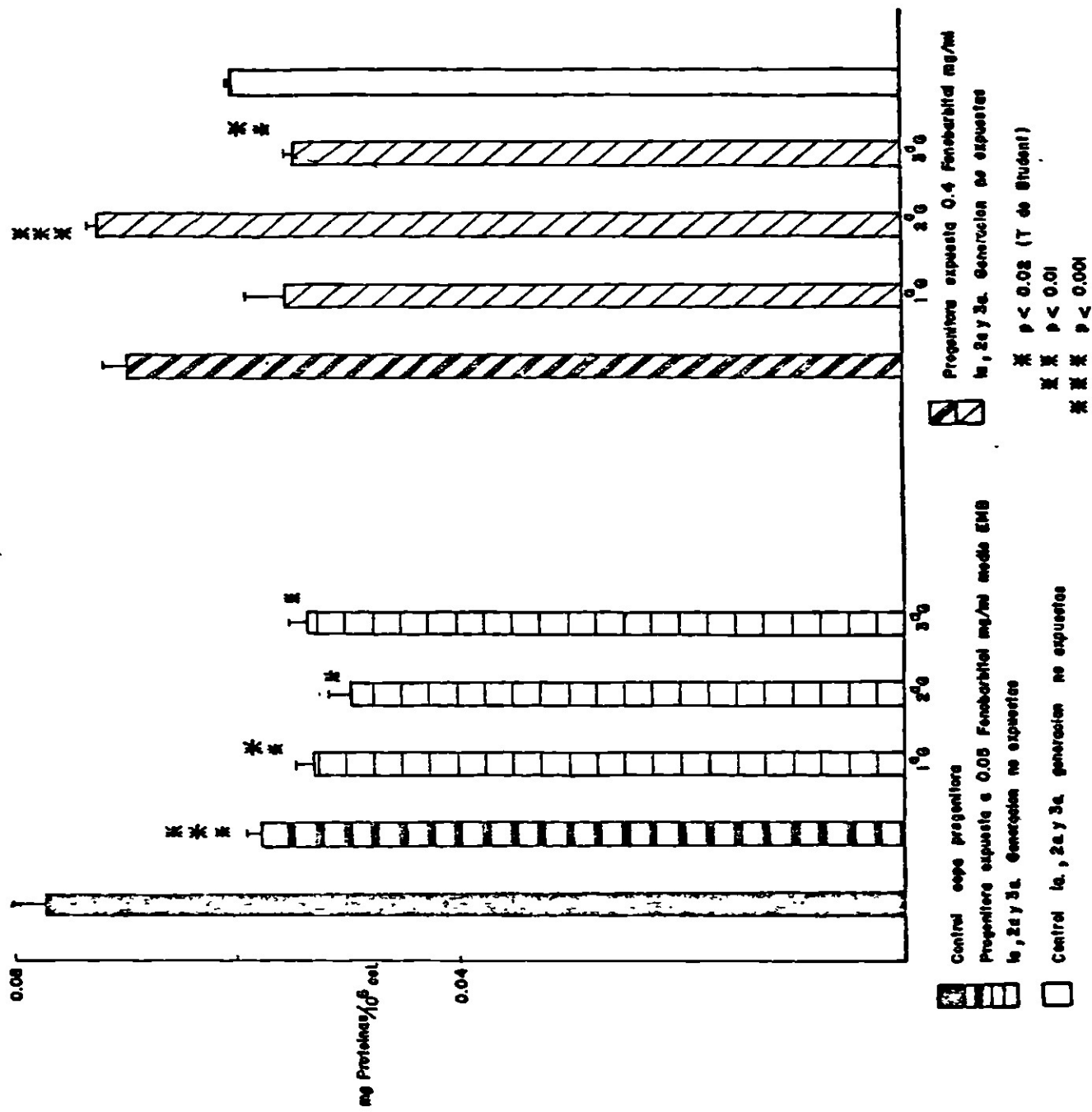
Los efectos producidos no son dosis dependientes, como puede observarse en la Fig. 7.

Los efectos se manifiestan aún en las generaciones no expuestas, siendo más notables en éstas que en las expuestas. Probablemente esto se deba a que el fenobarbital produce una alteración a nivel de DNA, la cual es transmitida de ésta manera a los descendientes.

mg Proteínas/ 10^6 células. Debido a que las proteínas son el elemento estructural de las células, en éste caso las bacterias, es importante conocer que cantidad de proteínas sintetiza un millón de células.

Cuando se somete la cepa de *Escherichia coli* a la acción del fenobarbital en concentraciones de 0.05 y 0.4 mg/ml de medio de cultivo la cantidad de proteínas con respecto al control sin droga, disminuye en la siguiente proporción, puede observarse en la Fig. 8. Se observa una disminución de un 25.19% ($p < 0.001$) en la cepa progenitora expuesta a 0.05 mg/ml, mientras que cuando una cepa progenitora es expuesta a 0.4 mg de fenobarbital/ml las proteínas disminuyen un 10.00% con respecto al control generacional, diferencia estadística no significativa ($p < 0.5$). El efecto producido directamente sobre las cepas progenitoras expuestas a la droga se transmite a las siguientes generaciones aún cuando éstas no son expuestas a dicha acción, al menos para la cepa expuesta a 0.05 mg de fenobarbital/ml. En la primera generación sin exposición a droga, proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa una disminución de un 16.00% ($p < 0.01$), en tanto que en la generación primera proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml la disminución es de 8.00% ($p < 0.5$) con respecto al control generacional, lo cual no es significativo estadísticamente. En la segunda generación sin exposición a droga proveniente de la cepa progenitora expuesta a 0.05 mg/ml se observa una disminución del 18.00% ($p <$

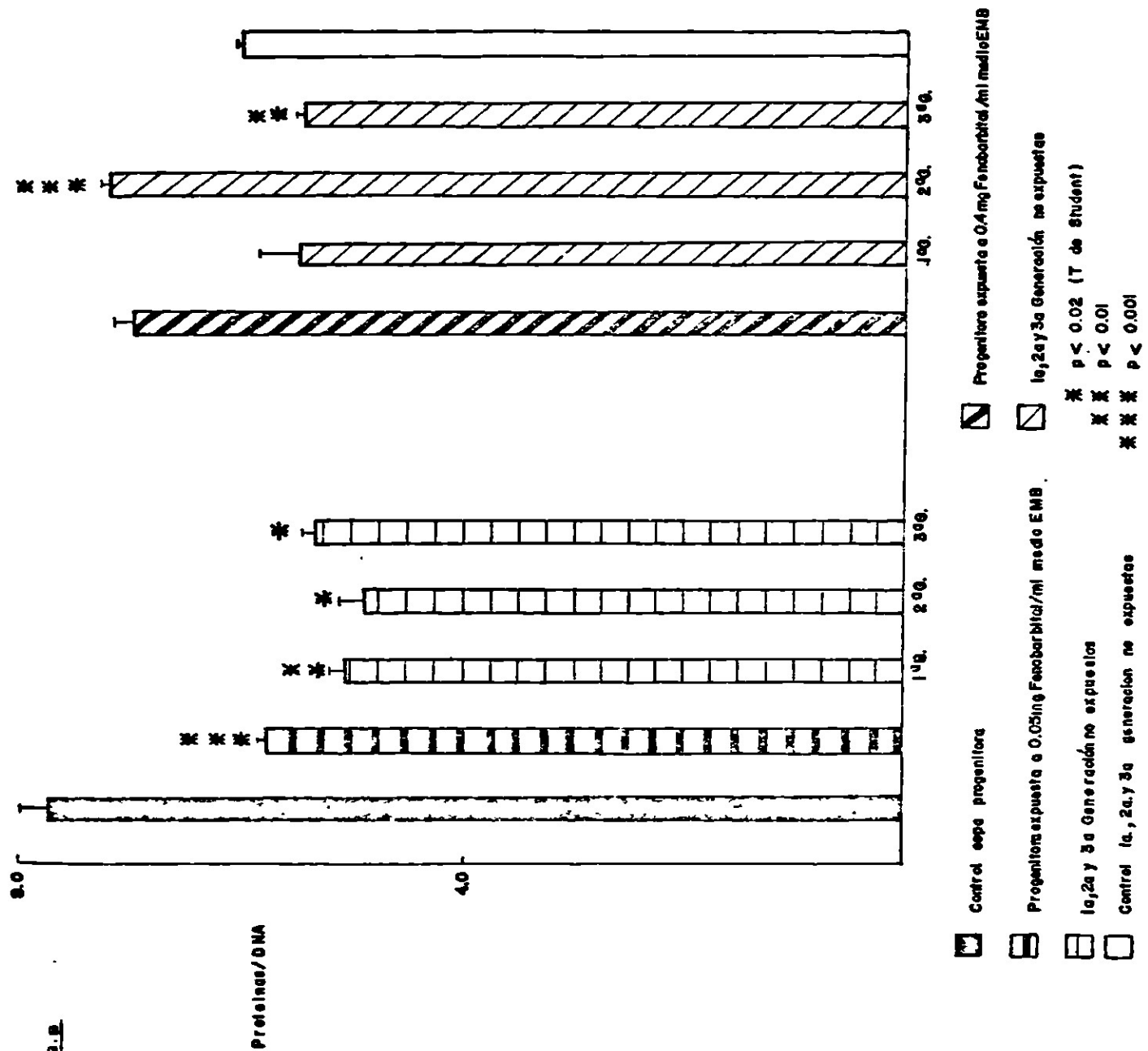
FIG. 3



0.02), mientras que en la segunda generación sin exposición a droga proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml se presenta un aumento de un 20.00% ($p < 0.001$) con respecto al control generacional. En la tercera generación sin exposición a la droga proveniente de la cepa que inicialmente se expuso a 0.05 mg/ml se observó una disminución en la cantidad de proteínas de un 11.16% ($p < 0.02$), en tanto que en la tercera generación proveniente de la cepa expuesta inicialmente a 0.4 mg de fenobarbital /ml se observa una disminución en la cantidad de proteínas de un 9.00% ($p < 0.01$) con respecto a los valores del control generacional. Los efectos producidos no son reversibles por lo menos hasta la tercera generación en las dosis ensayadas.

Proteínas/ DNA en la fig. 9 se describe el efecto del fenobarbital a dosis de 0.05 y 0.4 mg/ml en la concentración de proteínas por célula, el fenobarbital produce un efecto deletéreo en las cepas expuestas a las dos diferentes dosis por lo que la cantidad de proteínas por bacteria disminuye en un 25.05% ($p < 0.001$), en la cepa expuesta a 0.05 mg/ml, y en un 9.79% estadísticamente no significativo ($p < 0.5$) cuando la cepa es expuesta a 0.4 mg/ml con respecto a la cepa control. Esta disminución en la cantidad de proteínas no es dosis dependiente. En la primera generación sin exposición a droga, proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml, la disminución es de un 15.96% ($p < 0.01$), mientras que la primera generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml se observa una disminución de un 7.94% ($p < 0.5$) lo cual no es estadísticamente significativo con respecto al control generacional. En la segunda generación sin exposición a droga proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa una disminución del 18.08% ($p < 0.02$) con respecto a éste control; mientras que en la misma generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml se observa un aumen

FIG. 2

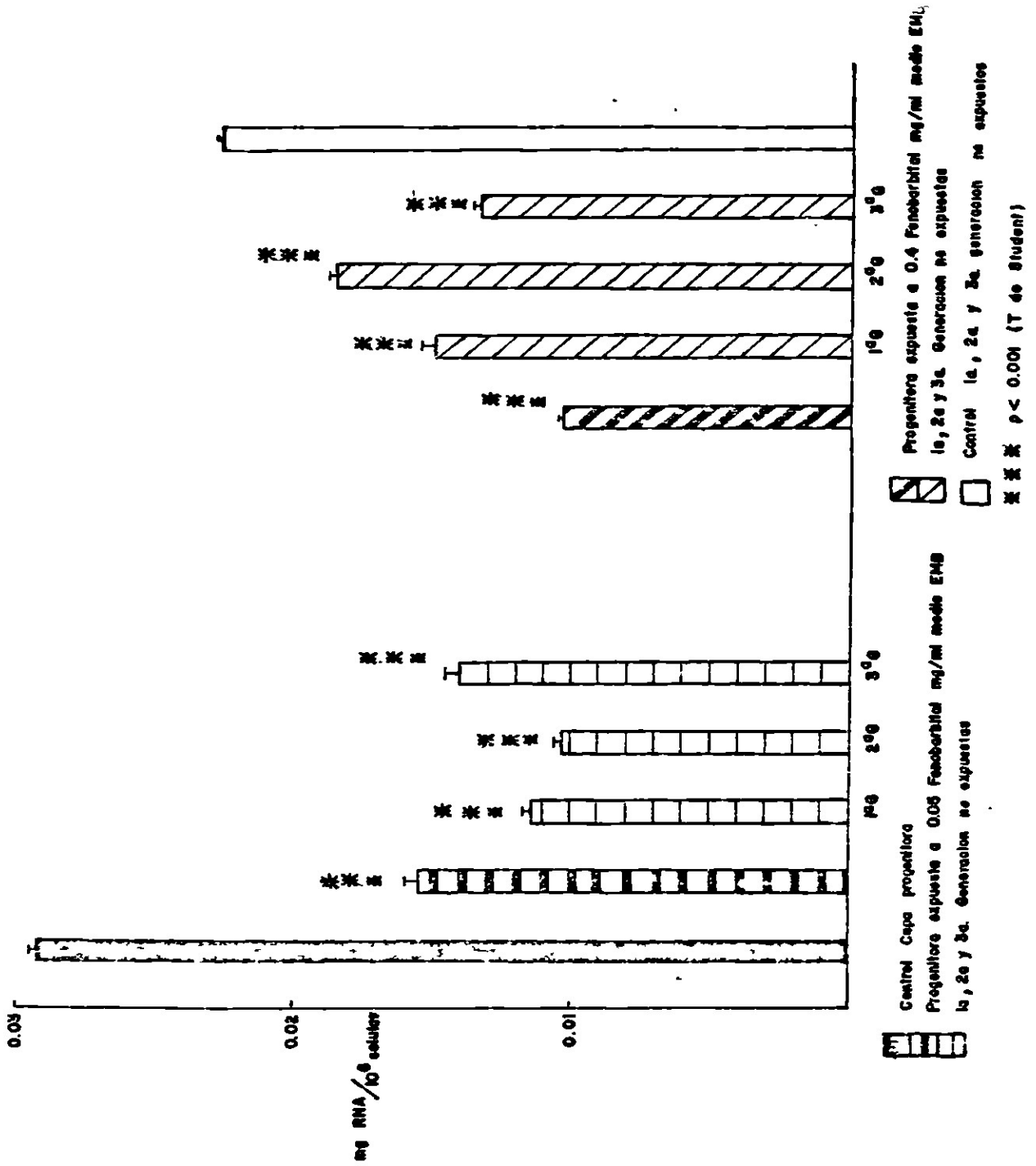


to del 19.97% ($p < 0.001$) con respecto al control. En la tercera generación sin exposición a droga proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg de fenobarbital/ml la cantidad de proteínas / bacteria disminuye en un 11.11. ($p < 0.02$), en tanto que la tercera generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml la cantidad de proteínas disminuye en un 9.09% ($p < 0.001$) con respecto al control generacional.

mg RNA/ 10^6 células. El fenobarbital ejerce un efecto directo sobre los ácidos ribonucléicos, por lo que la cantidad de éstos se va a encontrar disminuida en las cepas expuestas a las diferentes dosis de la droga.

Se puede observar en la Fig.10 que cuando una cepa de *Escherichia coli* es sometida a la acción de 0.05 mg de fenobarbital/ml la cantidad de RNA disminuye en un 47.10 ($p < 0.001$), mientras que cuando la cepa es expuesta a 0.4 mg/ml el RNA disminuye en un 64.85% ($p < 0.001$) con respecto a la cepa control.

El efecto se trasmite a las tres generaciones sucesivas, disminuyendo también la cantidad de RNA. En la primera generación no expuesta, proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml el RNA disminuye en un 49.78% ($p < 0.001$), mientras que la primera generación, proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml disminuye en un 33,77% ($p < 0.001$) la cantidad de RNA con respecto al control generacional derivado de la cepa control. En la segunda generación no expuesta a la droga, proveniente de la cepa progenitora expuesta a 0.05 mg/ml se observa una disminución del 54.62% ($p < 0.001$), la generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg de fenobarbital/ml presenta una disminución del 19.20, ($p < 0.001$) en RNA con respecto al control generacional. La disminución de RNA en la tercera generación no expuesta a droga pero que proviene de la cepa que inicialmente se expuso a 0.05 mg/ml es de un 32.47% ($p < 0.001$) y de un 40.97% ($p < 0.001$) en la tercera generación no expuesta, proveniente



de la cepa progenitora expuesta a 0.4 mg/ml, todo esto con respecto al control generacional. El efecto no es dosis dependiente. El efecto es irreversible por lo menos hasta la tercera generación derivada de las cepas expuestas a las dosis ensayadas

RNA/ DNA. Esta relación nos indica el contenido de ácido ribonucléico por bacteria, lo que es importante conocer, ya que el fenobarbital demostró que ejerce un efecto deletéreo directo en las cepas progenitoras expuestas a las dosis ensayadas, cuando fué medido por millón de células. En la Fig. 11 se encuentran los resultados respecto al contenido celular de RNA.

En la cepa progenitora expuesta a 0.05 mg de fenobarbital por ml el RNA por bacteria disminuye en un 46.88% ($p < 0.001$) con respecto al control, mientras que la cepa progenitora expuesta a 0.4 mg/ml disminuye en un 64.89% ($p < 0.001$) su contenido de RNA por bacteria con respecto a los valores de la cepa progenitora control. Este efecto si es dosis dependiente, por cuanto aumenta el efecto con el aumento de la dosis, pero no parece ser proporcional a la dosis.

En la primera generación no expuesta a droga proveniente de la cepa progenitora expuesta a 0.05 mg/ml el efecto se mantiene, por lo que la cantidad de RNA disminuye en un 49.64% y en un 33.77% ($p < 0.001$) para ambos, en la primera generación no expuesta a droga proveniente de la cepa progenitora expuesta a 0.4 mg/ml. En la segunda generación no expuesta a droga, proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml la disminución en la cantidad de RNA es de un 64.54% con respecto al control generacional, mientras que ésta misma generación pero proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml disminuye un 18.20% ($p < 0.001$) para ambos, su cantidad de RNA por bacterias con respecto a los valores del control generacional. En la tercera generación no expuesta a droga, proveniente de la cepa progenitora expuesta inicialmente a 0.05 mg/ml se observa una disminución

en el contenido de RNA por bacteria de un 38.47%, mientras que la tercera generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml disminuye en un 41.00% ($p < 0.001$ para ambos) el contenido de RNA con respecto al control generacional.

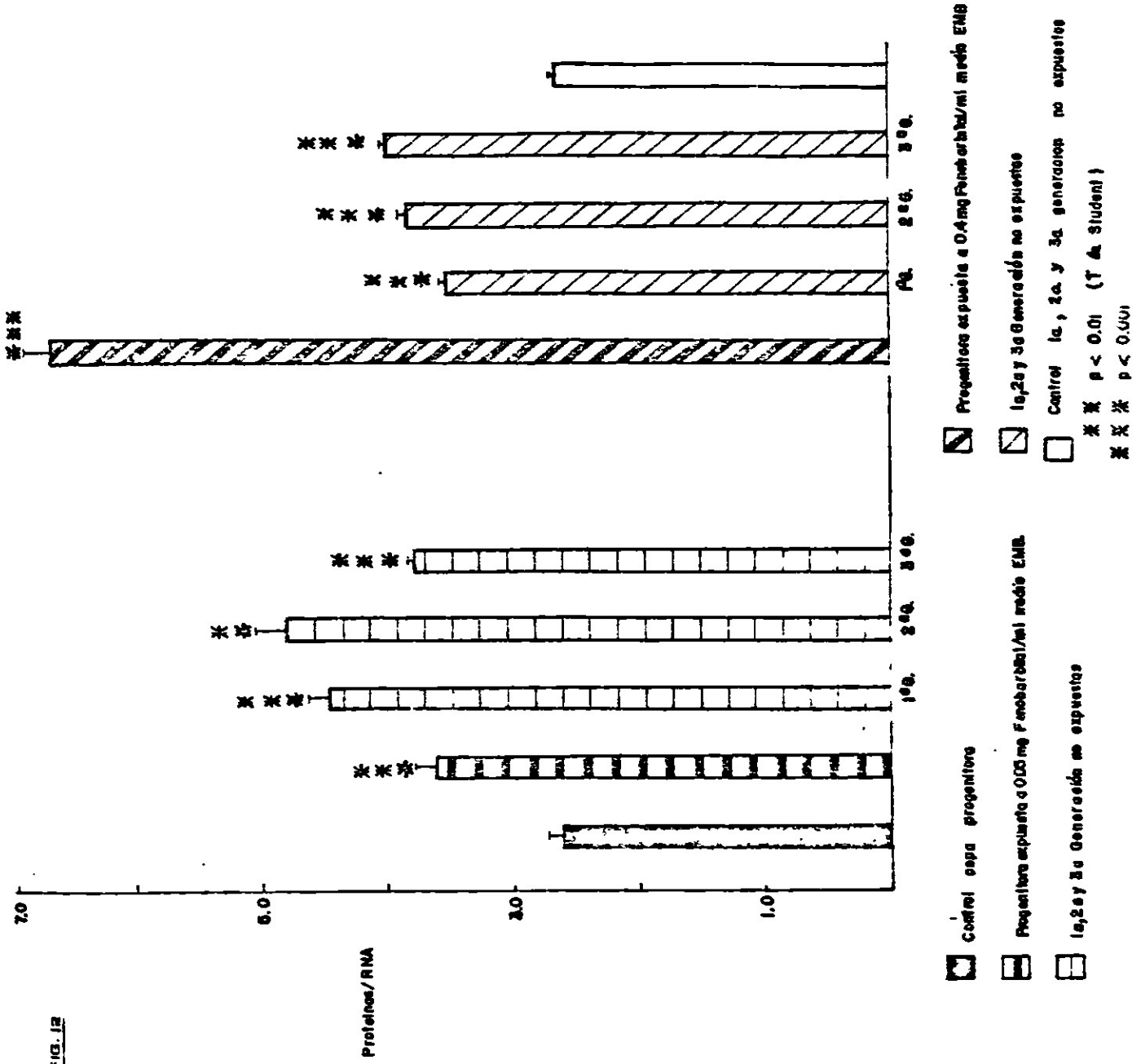
El efecto producido directamente en la cepa progenitora - expuesta a las dosis ensayadas, se mantiene y trasmite a las generaciones posteriores aún cuando éstas no hayan sido expuestas. Efecto irreversible por lo menos hasta la tercera generación.

Proteínas/RNA. El fenobarbital disminuye la cantidad de proteínas, pero ejerce un efecto potenciador eficientando el sistema sintético de proteínas, para que con la misma cantidad de RNA sea capaz de sintetizar proteínas en mayor cantidad que la cepa control, esto se observa en la Fig. 12.

Observándose así que en una cepa de *Escherichia coli*, expuesta a 0.05 mg/ml el aumento en la eficiencia sintética es de un 42.99% más que la cepa control, mientras que la eficiencia aumenta hasta un 156.93% ($p < 0.001$ para ambos) cuando la cepa progenitora es expuesta a 0.4 mg de fenobarbital/ml. Esta eficiencia en la síntesis proteica es transmitida a las generaciones sucesivas aún cuando estas no hallan sido expuestas a la acción de la droga. En la primera generación no expuesta a la droga, proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa un aumento del 67.26%, mientras que en la primera generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml la eficiencia sintética aumenta un 38.62% ($p < 0.001$ para ambos) con respecto a los valores de la cepa control generacional. En la segunda generación no expuesta a droga, proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa un aumento del 83.03%, y un aumento del 46.79% ($p < 0.001$ para ambos) en la segunda generación proveniente de la cepa expuesta a 0.4 mg/ml con respecto

al control generacional. En la tercera generación no expuesta a droga, pero proveniente de la cepa expuesta inicialmente a una concentración de 0.05 mg de fenobarbital/ml el aumento en la eficiencia sintética es de un 44.80% con respecto al control, mientras que en la tercera generación proveniente de la cepa expuesta inicialmente a 0.4 mg/ml la eficiencia aumenta en un 54.07% ($p < 0.001$ para ambos) con respecto a los valores de la cepa control generacional.

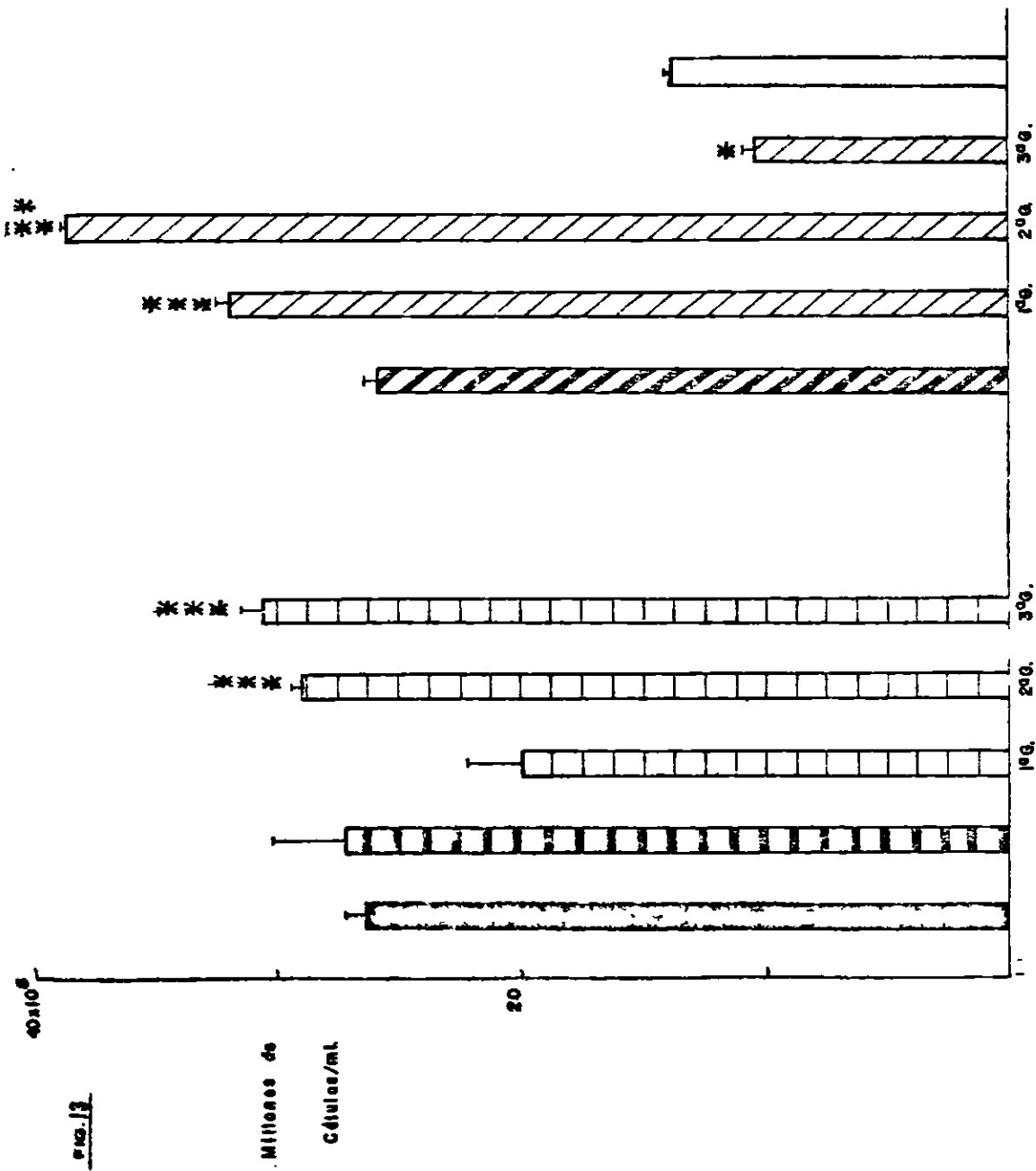
FIG. 12



MEZCALINA

Millones de células/ml. La mezcalina ejerce un efecto indirecto sobre la división celular como puede observarse en la Fig. 13. Cuando una cepa de *Escherichia coli* es expuesta por primera vez a la acción de la mezcalina en una concentración de 0.05 mg por ml se produce un aumento en la división celular del 3.18% dicho aumento no es estadísticamente significativo ($p < 0.8$) con respecto a una cepa control sin droga, mientras que la cepa progenitora expuesta a una concentración de 0.1 mg/ml experimenta una disminución en la división celular de un 1.21% el cual tampoco es estadísticamente significativo ($p < 0.8$) con respecto a los valores de la cepa control.

En la primera generación sin exposición a droga derivada de la cepa progenitora expuesta a 0.05 mg/ml se observa un incremento en el número de células de un 46.75% el cual no es estadísticamente significativo ($p < 0.2$) con respecto al control generacional, mientras que en la primera generación sin exposición a droga, derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml el cambio genético producido en la progenitora expuesta se manifiesta estimulando la división celular aumentando un 132.41% ($p < 0.001$) el número de células con respecto a los valores de la cepa control generacional. En la segunda y tercera generación no expuesta a la droga el cambio genético producido en la cepa progenitora expuesta a 0.05 mg/ml se manifiesta en éstas generaciones produciendo una estimulación en la división por lo que el número de bacterias por ml aumenta en un 112.01% ($p < 0.001$) en la segunda generación y la tercera aumenta en un 122.14% ($p < 0.001$) con respecto a los valores del control generacional. La segunda generación sin exposición a la droga derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg de mezcalina/ml experimenta el mayor aumento en el número de bacterias a consecuencia del cambio genético producido en la cepa progenitora, el aumento es de un 183.68% ($p < 0.001$)

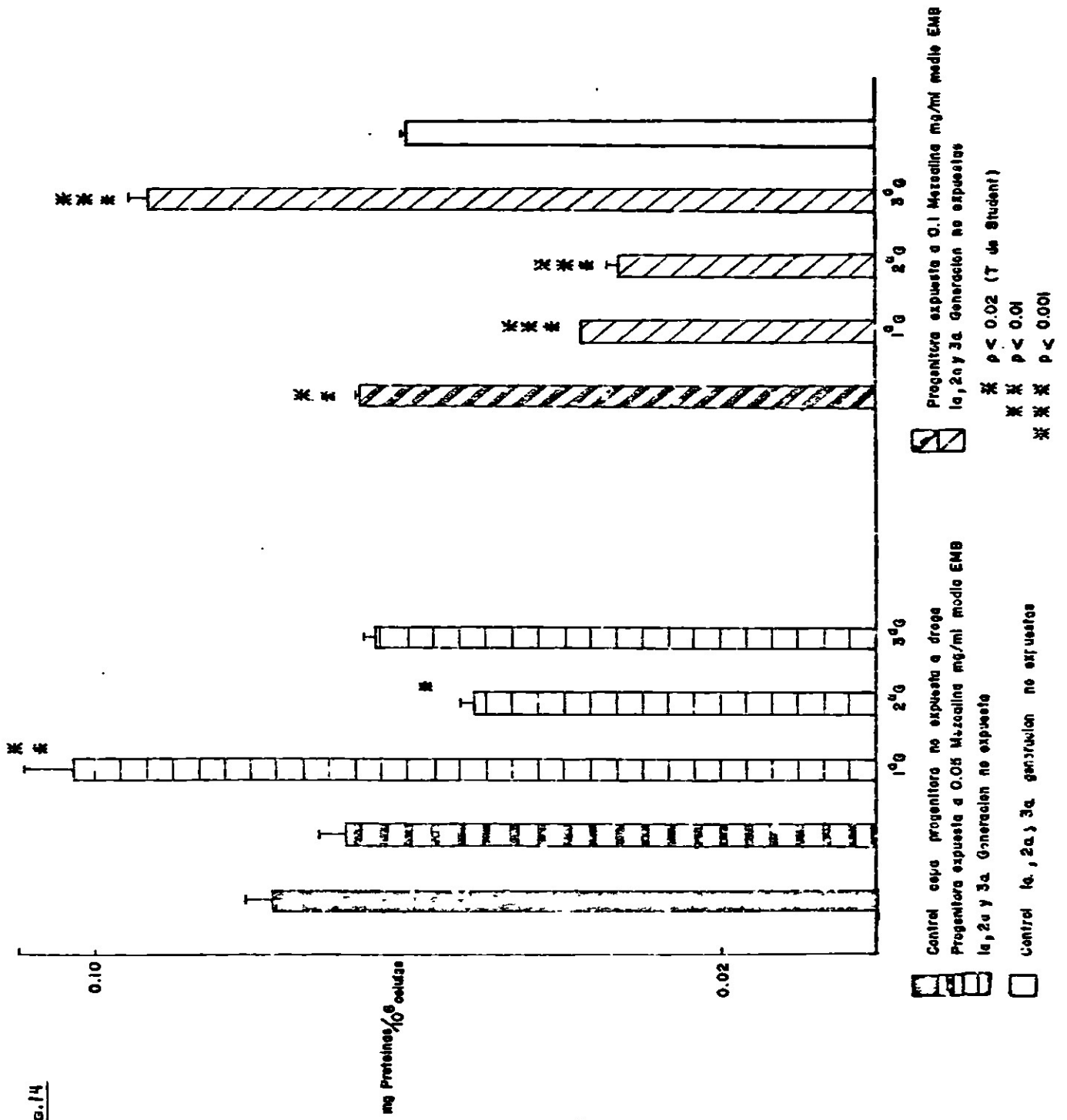


- ☐ Control cepa
 - ☐ Progenitores no expuestos a droga
 - ☐ Progenitores expuestos a 0.05 mg Mezcalina/ml medio EMB
 - ☐ 1a, 2a y 3a Generación no expuestas
 - ☐ Control 1a, 2a y 3a generación no expuestas
 - ▨ Progenitores expuestos a 0.1 mg Mezcalina/ml medio EMB
 - ▨ 1a, 2a y 3a Generación no expuestas
- * p < 0.02 (T de Student)
 ** p < 0.001

con respecto al control generacional. Contrariamente en la tercera generación derivada de la cepa expuesta se observa una disminución del 22.21% ($p < 0.02$) en el número de bacterias con respecto a los valores del control generacional.

mg Proteínas/ 10^6 células. Cuando una cepa de *Escherichia coli* es sometida a la acción de 0.05 mg de mezcalina/ml, la droga ejerce un efecto indirecto en la síntesis de proteínas, por lo que la cantidad de ésta se encuentra disminuída en un 10.52% con respecto al control, ésta disminución no es estadísticamente significativa ($p < 0.02$); mientras que cuando una cepa se expone a 0.1 mg/ml la cantidad de proteínas disminuye en un 15.06% ($p < 0.01$) debido a un efecto directo sobre la síntesis de proteínas. Las diferencias en el grado de significancia, suponemos se debe a la mayor magnitud del valor del error estándar para el caso de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml. En la primera generación no expuesta a la droga, derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml el cambio genético producido en ésta cepa se manifiesta con un aumento en la cantidad de proteínas de un 71.16% ($p < 0.01$) con respecto al control generacional; mientras que en la primera generación derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml, el efecto directo producido en la cepa progenitora persiste, por lo que la cantidad de proteínas disminuye en un 36.50% ($p < 0.01$) con respecto al control generacional. En la segunda y tercera generación no expuestas a droga, derivadas de la cepa expuesta inicialmente a 0.05 mg/ml, se observa una tendencia a regresar a los valores de la cepa progenitora y de la cepa control, ya en la tercera generación. La disminución en la cantidad de proteínas es de un 15.00% en la segunda generación ($p < 0.02$) y de un 6.33% en la tercera generación con respecto al control generacional, esta disminución no es estadísticamente significativa ($p < 0.3$). En la segunda generación no expuesta a la droga derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml, el efecto originalmente producido en la cepa progenitora persiste originando una disminu

FIG. 14

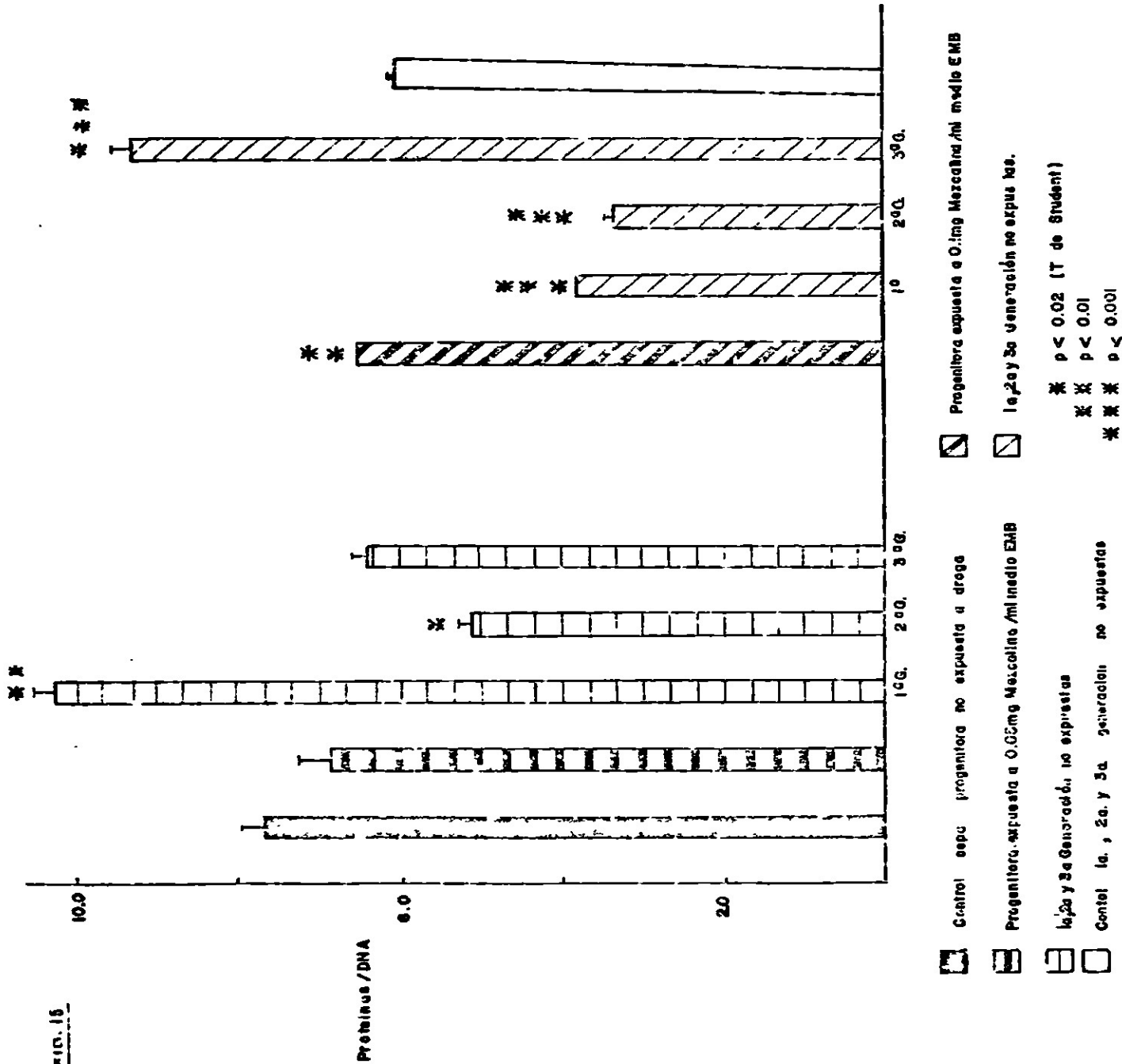


ción en la cantidad de proteínas de un 44.66% con respecto al control generacional ($p < 0.001$). En la tercera generación derivada de ésta misma cepa el efecto tiende a revertirse por lo que la cantidad de proteínas aumenta hasta un 55.00% con respecto al control ($p < 0.001$). Fig. 14

Proteínas/ DNA. Esta relación expresa la concentración proteica celular por bacteria. Se observa en la Fig. 15 que la mezcalina produce un efecto inhibitorio en la síntesis de proteínas en las cepas progenitoras expuestas en las dosis ensayadas. La cepa progenitora expuesta a 0.05 mg/ml disminuye la cantidad de proteínas en un 10.45% con respecto al control, esta disminución no es estadísticamente significativa ($p < 0.2$), mientras que la cantidad de proteínas disminuye en un 14.96% en la cepa expuesta a 0.1 mg de mezcalina/ml, siendo éste último estadísticamente significativo ($p < 0.01$).

La primera generación derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml presenta un aumento en la cantidad de proteínas de un 71.16% con respecto al control ($p < 0.02$), debido a que el cambio genético producido en la cepa progenitora se trasmite a las generaciones sucesivas, la primera generación derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml presenta una disminución de un 36.5% con respecto a los valores del control generacional ($p < 0.001$). En la segunda y tercera generación no expuestas a la droga derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml se observa claramente una tendencia a volver a los valores de la cepa progenitora y del control, observándose una disminución en la cantidad de proteínas de un 15.00% ($p < 0.001$), y un aumento del 6.33% en la tercera generación ($p < 0.3$) con respecto al control. En la segunda generación derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml se observa que la cantidad de proteínas se encuentra disminuida en un 44.66% ($p < 0.001$), mientras en la tercera generación derivada de la misma cepa se observa un efecto potencial mayor con un aumento de proteínas de 55.00% con respecto al control, este aumento es estadísticamente significativo ($p < 0.001$).

FIG. 16

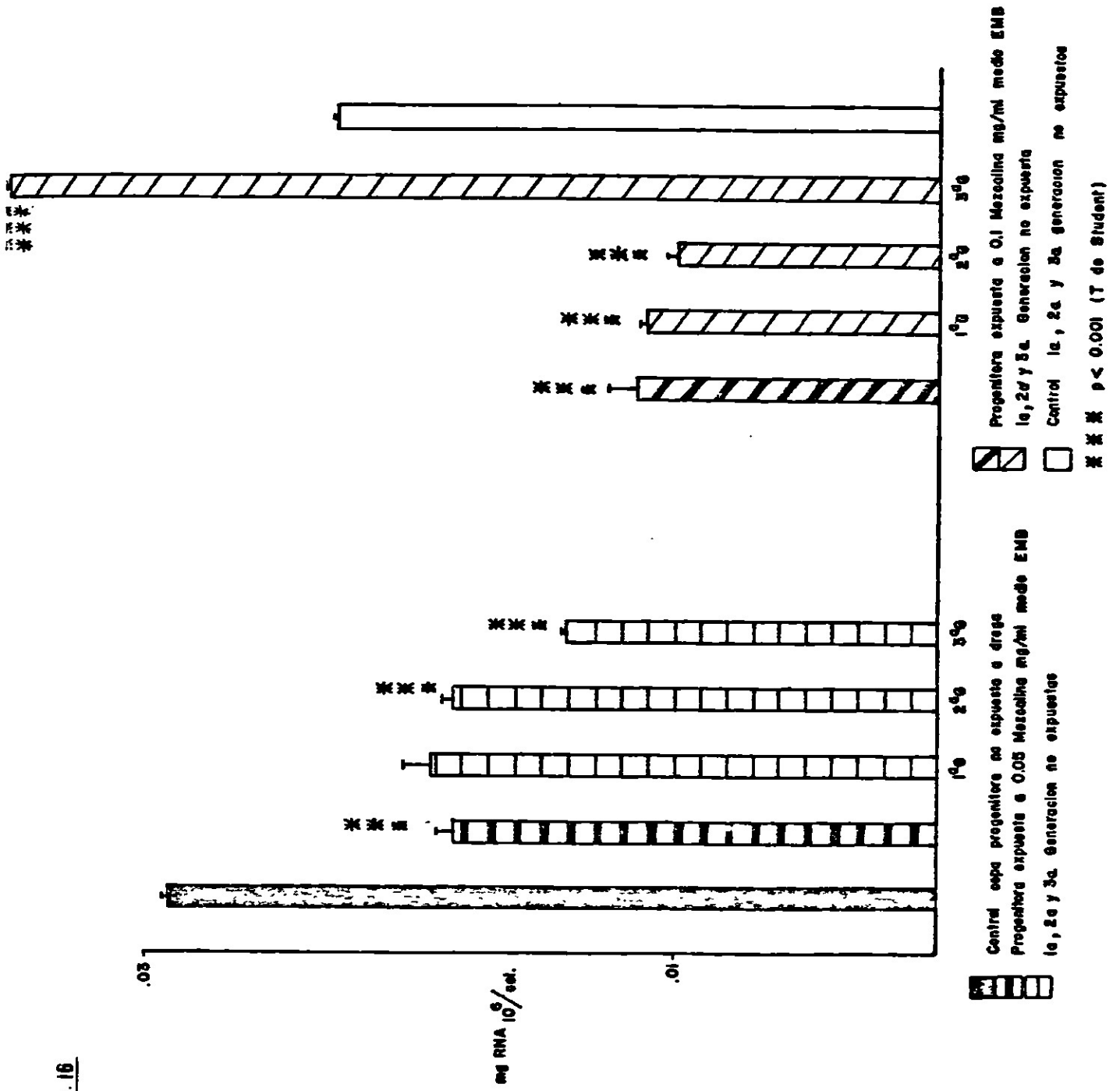


mg RNA / 10^6 células. Siendo en RNA el elemento esencial para la síntesis de proteínas, es importante conocer la cantidad de RNA sin que pueda estar afectado por el diferente número de células contenidas en un determinado volumen. Esta relación nos indica el contenido de RNA en un millón de células y los resultados obtenidos se muestran en la Fig. 16.

La lezcalina ejerce un efecto directo a las cepas expuestas a las dos dosis de drogas, por lo que la cantidad de RNA se encuentra disminuída. La cepa expuesta a 0.05 mg/ml disminuye un 37.20% ($p < 0.001$), y un 60.41% ($p < 0.001$) con respecto al control, la cepa expuesta a 0.1 mg/ml. Este efecto es dosis dependiente ya que cuando se duplica la concentración de droga el efecto inhibitorio también tiende a duplicarse. El efecto inhibitorio es transmitido a las generaciones sucesivas, aún cuando éstas no se exponen a la droga. La primera generación derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml disminuye en un 15.41% ($p < 0.01$), mientras que la derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml disminuye un 50.22% con respecto al control generacional ($p < 0.001$). En la segunda generación no expuesta a droga, derivada de la cepa expuesta a 0.005 mg/ml se observa una disminución del 18.94% ($p < 0.001$) y un 55.50% en la generación derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml con respecto al control ($p < 0.001$). Los efectos producidos en la cepa expuesta a 0.05 persisten aún en la tercera generación, observándose una disminución de RNA de un 77.88% ($p < 0.001$) con respecto al control. En la tercera generación derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml se observa un aumento de un 56.38% con respecto al control ($p < 0.001$), lo que indica una regresión de los efectos que hasta la segunda generación persistieron.

RNA / DNA. La descripción de ésta relación corresponde a la que anteriormente se hizo para RNA/ 10^6 células, pero con la

FIG. 16



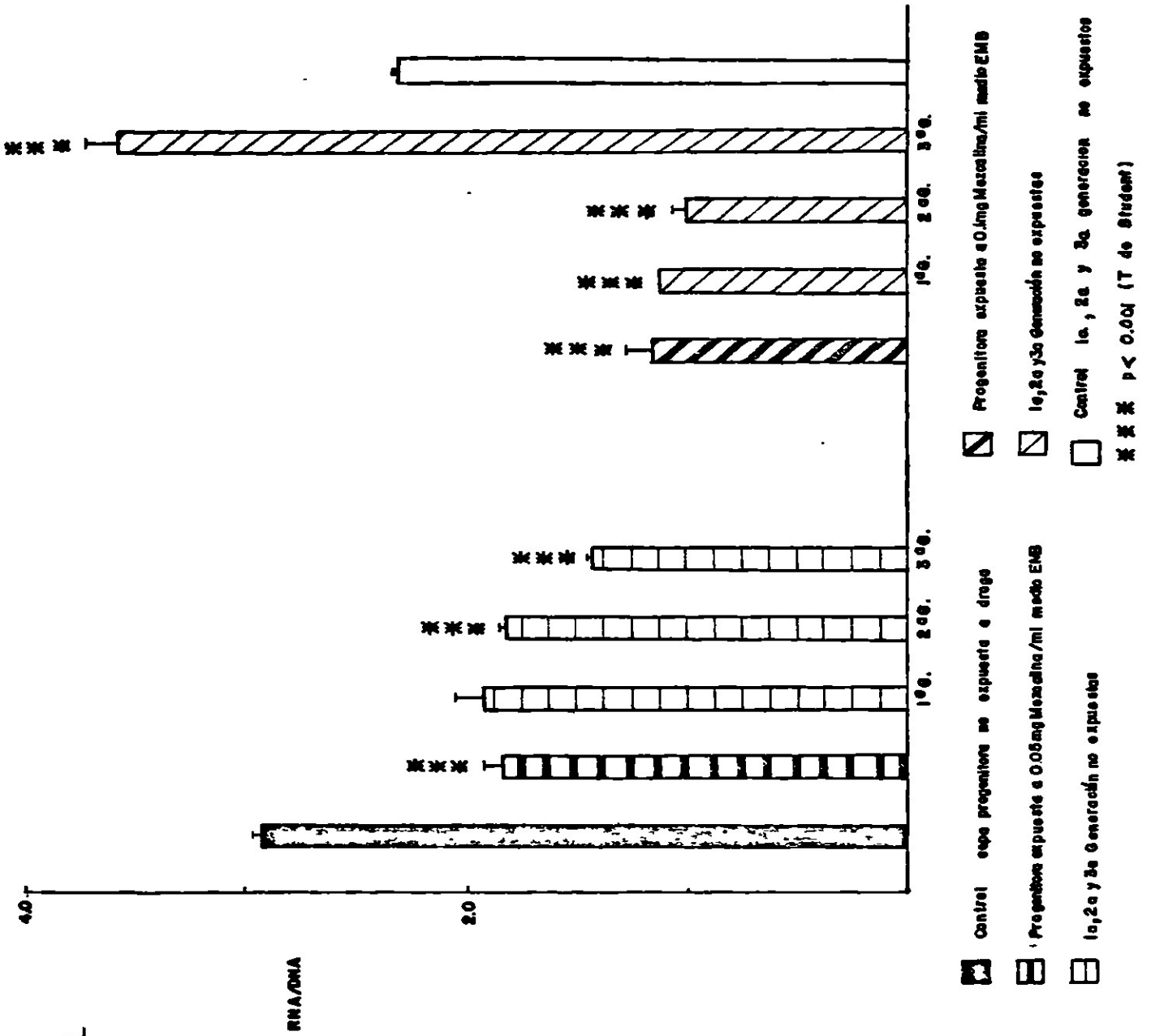
salvedad de que ésta es más exacta ya que expresa la concentración celular de RNA por bacteria como puede observarse en la Fig 17. Se produce un efecto directo sobre las cepas expuestas a las dos dosis diferentes, por lo que la cantidad de RNA disminuye en un 37.03% ($p < 0.001$) en la cepa expuesta a 0.05 mg de mezcalina/ml, mientras que en la cepa expuesta a 0.1 mg/ml disminuye un 60.53% ($p < 0.001$) con respecto al control sin droga, lo cual indica una dependencia entre dosis y efectos. Los efectos producidos en las cepas progenitoras se transmiten a las generaciones sucesivas, las cuales disminuyen en un 15.19% ($p > 0.05$), la primera generación y en un 19.05% ($p < 0.001$) la segunda generación; en un 37.60% ($p < 0.001$) la tercera generación, todas éstas generaciones son derivadas de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml y los valores comparados con los obtenidos en el control generacional.

En la primera y segunda generación sin exposición derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml también persisten los efectos inhibitorios causados directamente sobre la cepa progenitora, las disminuciones de RNA/ bacteria son de un 50.15% ($p < 0.001$) en la primera generación y de un 55.60% ($p < 0.001$) en la segunda generación, mientras que en la tercera generación se observa una regresión de los efectos por lo que la cantidad de RNA aumenta en un 56.35% ($p < 0.001$) con respecto a los valores del control generacional.

Los efectos producidos en las cepas progenitoras, son dosis dependientes, además de que se transmiten a las generaciones sucesivas.

Los efectos producidos son reversibles en la tercera generación derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg de mezcalina/ml.

Fig. 17

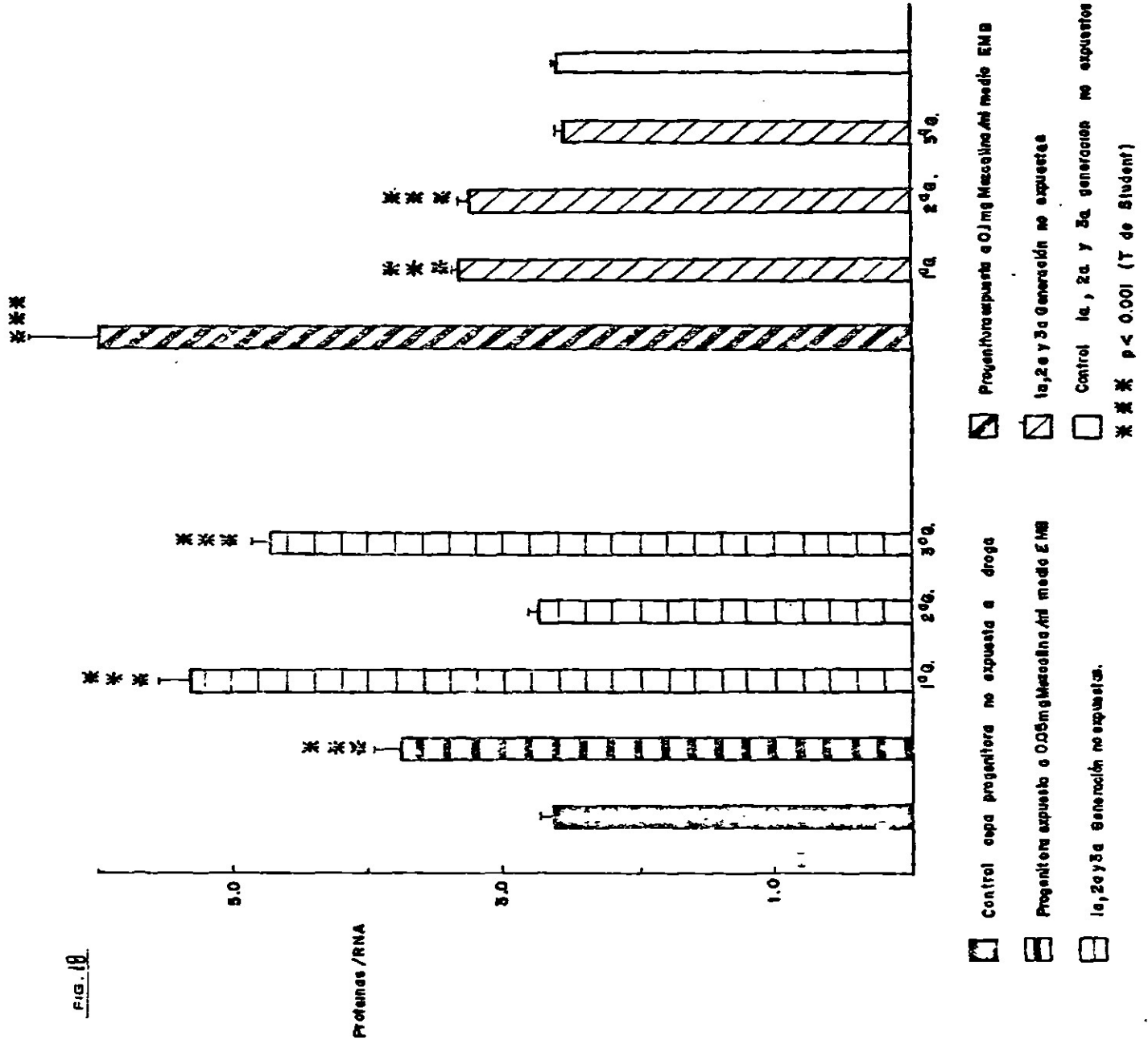


Proteínas/ RNA. Esta relación nos indica la eficiencia sintética de la bacteria para producir proteínas a partir de RNA disponible en la bacteria, los resultados obtenidos se muestran en la Fig. 18.

Directamente la mezcalina actúa en las cepas progenitoras expuestas aumentando la eficiencia sintética en un 42.96% ($p < 0.001$) en la cepa expuesta a una dosis de 0.05 mg/ml; y en un 128.89% ($p < 0.001$) cuando una cepa de *Escherichia coli* se expone a 0.1 mg de mezcalina/ml, todo ésto comparado con los valores de la cepa control sin droga. En la primera generación sin exposición a droga proveniente de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml el aumento es del 102.59% ($p < 0.001$) mientras que la proveniente de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml presenta un aumento de tan sólo un 27.35% con respecto al control generacional ($p < 0.001$). En la segunda generación derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml el aumento es mínimo, de un 4.88% este aumento no es estadísticamente significativo ($p < 0.4$), en la segunda generación derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml el aumento es de un 25.37% con respecto al control generacional ($p < 0.001$).

El efecto causado en la cepa progenitora persiste aún en la tercera generación derivada de la cepa expuesta a 0.05 mg/ml observándose un aumento en la eficiencia sintética de proteínas de un 71.04% con respecto al control generacional ($p < 0.001$), mientras que en la tercera generación derivada de la cepa expuesta a 0.1 mg/ml, la eficiencia sintética de la célula disminuye hasta casi llegar a los valores de la cepa control generacional, la disminución es de un 0.52% el cual no es estadísticamente significativo ($p < 0.9$).

FIG. 10



DISCUSIÓN

En los últimos años se han reportado datos acerca de la acción y distribución biológica de la metaqualona, fenobarbital y mezcalina, en animales de laboratorio (ratas, monos, hamsters).

Louise B. Speck en 1956 mostró algunos de los efectos fisiológicos por incremento de dosis de mezcalina, comprobando efectos hipoglucemiantes, vasoconstrictores, alteración del ritmo cardíaco en ratones. (32)

Geber en 1967 reportó malformaciones congénitas inducidas por mezcalina en hamsters. (13)

Shaw en 1970 expresó: "A pesar de que los resultados cromosómicos son conflictivos, existe un acuerdo general de que el LSD, ácido bromolisérgico y la mezcalina son teratógenos para el ratón, rata y hamsters". (29)

En 1972 Ronald J. Taska y Joseph C. Shoolar realizaron un experimento en monos, observando la transferencia placentaria y la distribución tisular de mezcalina, marcada con ^{14}C , demostrando que dicha transferencia se encuentra limitada por algunas propiedades fisicoquímicas de la mezcalina. (35)

Pershotam P. y cols. confirmaron el efecto de la metaqualona sobre la inducción de enzimas hepáticas, valorada en ratas y comparada con los efectos del fenobarbital, resultando ser éste último un mayor inductor de enzimas microsomales hepáticas. (26)

Por lo que se puede apreciar, se conocen algunos de los efectos etiológicos, fisiológicos y patológicos de las drogas, pero se sabe relativamente poco acerca de su acción genética, específicamente a nivel de ácidos nucleicos celulares, por lo que los resultados que se dan a conocer en éste trabajo, creemos aportan datos interesantes ya que se reportan alteraciones

cuantitativas del material genético en una cepa bacteriana, siendo notable que muchos de los efectos observados en la progenitora expuesta a la droga persisten en las generaciones sucesivas (aunque las mismas no hayan sido expuestas), al menos en la tercera generación estudiada por nosotros.

METAQUALONA

De nuestros resultados experimentales, podemos concluir que ésta droga, cualquiera que sea la dosis de exposición provoca un pequeño incremento (aunque estadísticamente significativo) en el número de células por ml de medio de cultivo, como se muestra en la Fig. 1. La magnitud del incremento obtenido se hace mayor en las generaciones hijas no expuestas a las dos dosis ensayadas (0.05 mg/ml, 0.4 mg/ml) con excepción de la tercera generación derivada de la exposición inicial de la progenitora a la máxima dosis, donde el efecto se hace menor lo que provoca que el número de células tienda a ser el original. Fué de interés entonces conocer si el efecto genético responsable de una mayor división celular era también estimulatorio para el sistema biosintetizador de proteínas por ser éste un mecanismo esencial de desarrollo celular. Pueden verse los resultados obtenidos en la Fig. 2 y 3, cuando se midieron las concentraciones de proteínas y se expresaron por millón de células y por DNA (concentración celular). Las generaciones con exposición directa a la droga no incrementa, como puede observarse, su contenido proteico pero tienen más células, lejos de eso, los valores son estadísticamente menores que los controles, lo cual quiere decir que las células ven disminuídas su concentración de proteínas por efecto del contacto con la droga, siendo éste efecto más pronunciado en la concentración usada más baja de la droga. Por cuál o cuáles mecanismos la metaqualona disminuye la cantidad de proteínas de las células expuestas, no lo sabemos, pero seguramente ese o esos mecanismos se ejercen, o sobre el proceso de

degradación de proteínas ya existentes (disminución de la vida media de éstas moléculas) o sobre el de biosíntesis de nuevas proteínas, inhibiéndola, o sobre ambos. Sin embargo, es notable que las generaciones sucesivas que ya no tienen contacto con la droga pero que derivan de una cepa expuesta a 0.05 mg/ml de metaquinalona, y que también incrementan su número de células, no tienen disminuída su concentración celular de proteínas (una excepción a ésto parece ser la segunda generación), éste fenómeno de "escape" de la acción deletérea de la droga, se produce recién en la tercera generación derivada de la progenitora expuesta inicialmente a la dosis de 0.4 mg/ml.

Ya que el contacto con la droga produce una disminución en la cantidad de proteínas en las células expuestas, fué interesante, ensayar experimentalmente, la hipótesis de si ésto es una consecuencia de que la droga disminuye también la síntesis de éstas moléculas. Se conoce ampliamente que una célula para hacer más proteínas, necesita incrementar su contenido en ácido ribonucleíco y viceversa, una célula que haga menos proteínas de lo normal, también disminuirá su contenido celular de RNA. Los resultados obtenidos a éste respecto (Fig. 4 y 5), indican claramente que el contenido celular, de RNA, también es afectado por la presencia de la droga, y así, las células expuestas a cualquiera de las dosis ensayadas, presentan disminuciones significativas de RNA. Esto mismo ocurre también en las generaciones hijas provenientes de las cepas expuestas, con la sólo excepción de la tercera generación derivada de una cepa progenitora expuesta inicialmente a 0.4 mg/ml de la droga. Al relacionar éste dato con lo observado en las figuras 2 y 3 donde se vió que ésta generación presenta ya una mayor cantidad de proteínas, surge la posibilidad de un aumento en la eficiencia del sistema biosintetizador de proteínas, como una manera que explica que éstas células de la tercera generación no expuestas puedan hacer mayor cantidad de proteínas sin cambios considerables en su contenido de RNA. Los resultados experimentales a éste respecto mostrados en

la Fig. 6 indican que, efectivamente en éstas condiciones las células aumentaron exitosamente su eficiencia, pero esto fue cierto sólo para la tercera generación derivada de la progenitora expuesta inicialmente a 0.4 mg de metaqualona/ml, ya que los otros cultivos aunque aumentaron su eficiencia también, no lograron hacer mayor cantidad de proteínas.

Todos éstos resultados permiten aseverar que metaqualona, a las dosis ensayadas por nosotros, ejerce un efecto deletéreo sobre el material genético de las células expuestas, el cual - persiste en las generaciones sucesivas y que repercute en el - proceso de biosíntesis protéica afectando el desarrollo normal de las células. El fenómeno de "escape" a éste efecto negativo de la droga se produce (en nuestras condiciones experimentales) recién en la tercera generación no expuesta, derivada de una cepa progenitora expuesta inicialmente a 0.4 mg/ml y probablemente ocurra como consecuencia de mutaciones favorables a nivel del - sistema de translocación de mensaje genético:

FENOBARBITAL

El patrón de efectos observados con ésta droga (a 0.05 mg/ml y 0.4 mg/ml) a nivel del número de células en los cultivos analizados, se parece bastante al efecto de metaqualona. También con fenobarbital, al igual que lo observado con metaqualona, las células expuestas a la droga, incrementan ligeramente (aunque en forma significativa estadísticamente) el número de células, siendo éste efecto amplificado en las generaciones sucesivas no expuestas, como se muestra en la Fig. 7.

El contenido celular de proteínas es menor que el del control, pero sólo para la cepa expuesta a 0.05 mg/ml así como para sus descendientes no expuestos hasta la tercera generación (Figs. 8 y 9) en cambio, esto no ocurre a niveles mayores (0.4 mg/ml) de exposición a la droga. Dado que el fenobarbital es un

fuerte estimulante para la inducción de proteínas en casi todos los sistemas estudiados (6), el efecto observado a dosis de 0.4 mg/ml podría estar relacionado con ésta propiedad de la droga. Fenobarbital podría estimular la biosíntesis protéica a través de una inducción positiva para una mayor producción de RNA o aumentando la eficiencia del sistema de biosíntesis protéica de tal manera que la célula pueda hacer más proteínas con igual (o incluso menor) contenido de RNA. Para ensayar la primera posibilidad se midió el contenido celular de RNA en las diferentes condiciones experimentales, los resultados se muestran en las Figs. 10 y 11. Como puede observarse en ninguno de nuestros cultivos, tanto de cebras expuestas como sus descendientes no expuestos, hubo incrementos en las concentraciones celulares de RNA y por el contrario, si hay descensos significativos con respecto a los dos tipos de controles para todos los casos. Quedaba en pie todavía la otra pregunta ¿Es capaz el fenobarbital de facilitar la inducción de síntesis protéica a través de favorecer un aumento en la eficiencia del sistema?. La respuesta a ésta pregunta la encontramos en la figura 12. Como puede deducirse claramente de los datos experimentales obtenidos esa respuesta es positiva y podemos agregar también que éste efecto de la droga no sólo es más intenso cuando la droga está presente en el medio de cultivo, sino que es proporcional a la dosis usada.

Aunque fenobarbital y metaqualona se parecen en cuanto a que ambos son fuertes inhibidores del contenido celular de RNA, ambos eficientan el sistema biosintetizador de proteínas con la diferencia de que fenobarbital lo hace en forma dosis dependiente y el cambio inducido es capaz de transmitirse hasta la tercera generación no expuesta sin importar la dosis original de exposición.

MEZCALINA

Por lo que pudimos observar experimentalmente, no hubo efecto directo de la droga sobre el número de células de *Escherichia coli* expuestas a dosis de 0.05 mg/ml y 0.1 mg/ml al menos durante el tiempo del experimento que fue de 24 horas desde que se sembró la cepa hasta que se recolectó. Sin embargo el contacto con la droga afectó la capacidad de división de las células de las generaciones futuras, aunque éstos ya no reciban exposición a la droga. Como se vió en la Fig. 13, para los niveles de droga de 0.05 mg/ml el efecto recién es observable en la segunda y tercera generaciones los cuales tienen niveles significativamente más altos de células/ml de medio de cultivo que los controles. Este fenómeno de incremento o estímulo de la división celular se manifiesta ya en la primera generación no expuesta, cuando el nivel inicial de droga en contacto con la cepa original, se duplicó (de 0.05 a 0.1 mg/ml), continúa en la segunda generación (con niveles de diferencia estadísticamente significativos) pero ya en la tercera generación, lejos de observarse un incremento se vé una notable disminución en el número de células. Esto sugiere fuertemente un efecto inhibitorio sobre la división celular, el cual no se manifestó en las generaciones segunda y tercera y que sólo fué evidente a la dosis más alta de droga, a la que se expuso la generación progenitora (0.1 mg/ml).

Sea cual fuere el efecto de mezcalina (a cualquiera de las dosis ensayadas) sobre la división celular, los resultados mostrados en la figura 13, sugieren que ese o esos efectos no afectan el proceso divisorio directamente, sino que el efecto se produce a nivel del metabolismo celular o del material genético en forma post-translocacional todo lo cual afectó las divisiones celulares sucesivas. Todo este fenómeno se sostiene en todas las generaciones estudiadas a dosis bajas de la droga (0.05 mg/ml) pero tiende a ser compensado por factores "conectores" (mutaciones compensantes) a dosis altas de la droga u después de -

la segunda generación. Para ensayar experimentalmente la hipótesis de que la exposición inicial a mezcalina afecto al sistema biosintetizador de proteínas, lo cual podría reflejarse en alteraciones en la cantidad de proteínas de las células, se midieron las cantidades celulares de proteína y de RNA. Los resultados dados en las figuras 14 y 15 muestran que la exposición directa a la dosis de 0.1 mg/ml solamente produce una disminución significativa del contenido protéico en las células de *Escherichia coli* aunque se muestra ya una tendencia en éste sentido aún a dosis bajas (0.05 mg/ml). Los resultados más congruentes se obtienen con la dosis de 0.1 mg/ml donde el efecto de la droga se manifiesta es una continua disminución del contenido protéico hasta la segunda generación y desapareciendo en la tercera generación lo cual ya manifiesta una franca recuperación y es incluso capaz de presentar mayor contenido protéico. Ya que una disminución en la cantidad de proteínas puede ser la consecuencia de una mayor degradación celular de las mismas, de una síntesis disminuída, o de una combinación de éstos procesos, fué de interes para nosotros cuantificar el RNA, principal precursor celular de la biosíntesis de una proteína. Es ampliamente conocido que el contenido celular de RNA es proporcional a la síntesis protéica en esa misma célula; cuando una célula incrementa su contenido en RNA, necesariamente incrementará las proteínas sintetizadas. Si una célula aumenta su contenido de RNA y ésto no se ve reflejado en un mayor contenido protéico, eso significa que las proteínas sintetizadas se degradaron a mayor velocidad o que la eficiencia del sistema de síntesis protéica está disminuída. Nuestros resultados en éste sentido, mostrados en las Figs. 16 y 17 indican claramente que la exposición de *Escherichia coli* a las dos dosis ensayadas de mezcalina es capaz de disminuir significativamente los niveles celulares de RNA, siendo éste efecto proporcional en intensidad a las dosis. También se demuestra claramente la perseveran

cis la inhibición en las generaciones sucesivas no expuestas, invirtiéndose el efecto aún en la tercera generación derivada de una cepa expuesta inicialmente .1 mg/ml de la droga. Desconocemos la razón de por qué la reversión se observa sólo con la dosis mayor de droga y no a niveles más bajos de la misma, especialmente si se conciere que a niveles de 0.1 mg/ml el efecto inhibitorio hasta la segunda generación es más marcado que el observado con dosis más bajas de la droga. El descenso tan marcado en la concentración celular de RNA no se evidencia en una disminución proporcional del contenido celular protéico, al menos para la generación progenitora expuesta a la droga, ya que, para las dosis de 0.05 mg/ml no hay diferencia estadísticamente significativa entre el contenido protéico del control y el de la cepa expuesta (ver Fig. 15) haciéndose dignificativa esa diferencia recién cuando se utiliza 0.1 mg/ml de mezcalina. Esto nos sugirió la posibilidad de un aumento en la síntesis protéica. Para ésto se determinó la relación proteínas/RNA que mide precisamente la eficiencia de "síntesis protéica". Los resultados obtenidos y que son mostrados en la figura 18, indican claramente un incremento significativo en la eficiencia de síntesis protéica, siendo el aumento en la magnitud de la eficiencia también proporcional a la dosis usada. Este aumento en la eficiencia con que la célula hace sus proteínas se sostiene a dosis bajas hasta la tercera generación y sólo hasta la segunda generación a dosis de 0.1 mg/ml. Esto último es coherente con los resultados anteriores ya que la tercera generación derivada de una exposición inicial a 0.1 mg/ml de la droga ya contiene cantidades normales de RNA por lo que no necesita aumentar su eficiencia de síntesis para poder hacer la cantidad de proteínas que la célula necesita.

CONCLUSIONES

Con nuestro trabajo creemos haber avanzado en el conocimiento de los mecanismos celulares de acción de las drogas aquí estudiadas, así como en los procesos involucrados para que los efectos del uso de las mismas se transmitan a generaciones sucesivas no-expuestas a la droga, pero derivadas de una generación expuesta.

En qué medida, nuestros resultados experimentales obtenidos con un organismo unicelular como la *Escherichia coli* puedan extrapolarse a sistemas mamíferos, biológicamente más complejos, no lo sabemos, pero creemos que estudios como el aquí presentado puedan ser una fuerte ayuda para poder comprender fenómenos más complicados como los de adicción a este tipo de drogas o cambios mutacionales inducidos en descendientes de adictos.

Concretamente, lo que sí podemos asegurar, es que a nivel unicelular pudimos comprobar cambios bastante representativos en el material genético, en consecuencia, mutaciones genéticas con regresión en algunos casos.

B I B L I O G R A F I A

1. BALLINGER B, BROWNING., M., O' MALLEY, K.
AND STEVENSON, I. II. : Drug metabolizing capacity
in states of drug dependence and withdrawal.
Brit., J. Pharmacol 45: 638-643, 1972
2. BOWMAN Y RAND
Farmacología
Ed. Interamericana, págs. 42.70-42.71
México D.F. 1984
3. BRIDGET T. HILL. S. WHATLEY
Febs Letters, 1, 20, 56, 1975
4. COMITE DE EXPERTOS DE LA OMS EN DROGAS
TOXICOMANIGENAS: 13^o, 14^o y 16^o Informe.
Org. Mund. Salud. Inf. Tecn. Ser., págs. 273,
312, 407. 1964, 1965, 1969
5. CLARKE E. G. C.
Isolation and identification of drugs.
Ed. The Pharmaceutical Society of Great Britain
Págs. 411-412, 486-487, 404-405.
6. CRESTEIL, T; CELIER, C; KREMERS, P; FLINDIS, J;
BEAUME, P; LEROUX, J;
Br. J. Clin. Pharmacol., 16, 651 1983

7. DAVIS E. D., DUBELCOO R., EISEN H. N., GINSBERG H. S., WOOD W. B AND Mc. CARTY M.
Tratado de Microbiología
Ed. Salvat, S. A., Barcelona, España
Págs. 773-774, 787 1976
8. DELAY, J. SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA
Farmacología
Publicación técnica No. 4
Segunda Edición 1972
Ed. El Manual Novaro; México, D. F.
9. DIBICO REACTIVOS
Laboratorios S. A.
Medios de cultivos 1984
Int. J. Acclimat. December 1984
10. FISHER RONALD A. y FRANK YATES
Tablas estadísticas para investigadores científicos
Ed. Aguilar, Madrid, España
Pág 50 1954
Ed. Omega, S. A., Barcelona, España
11. FLECK, A. & MUNRO, H. N.
Biophys acta 55: 571 1962
12. GARDNER E. J
Principios de Genética
Ed. Limusa, México D. F.
Págs. 151-159, 163-164 1976
LOWRY C. B., ROBERTSON S. J., FAIR, A. G.
13. GEBER, W. F.
Congenital malformations induced by mescaline,
lysergic acid diethylamide, and bromolysergic acid
in the hamsters.
Science, Washington D.C. 157: 265-266 1967

14. GOLDNER, M., GLASO, D., FLEMING, P.
Can. J. Microbiol 14: 139 1968
15. INFORME DE UN GRUPO CIENTIFICO DE LA OMS
Principios aplicables al estudio preclínico de la
Inocuidad de los medicamentos.
Org. Mund. Salud. Ser. Inf. Tecn., 341 1960
16. JAWETZ E.
Manual de Microbiología Médica
Ed. El Manual Moderno; México, D. F.
Págs. 8-17, 41-44 1973
17. KATO, M.
Int. J. Addict. December 1969
4 (4): 591-621
18. LEHNINGER A. L.
Bioquímica
Ed. Omega, S. A., Barcelona, España
Págs. 30-31 1977
19. LITTER MANUEL.
Farmacología
Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina
Págs. 31-33, 38, 44, 55, 57.
20. LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J, FARR, A. L,
& RANDALL, R. J.
J. Biol. Chem, 193, 265, 1951
21. MANUAL DE NUTRICION
Facultad de Medicina
U.A.S.L.P.

22. MUNRO, HIN, & FLECK A.,
J. Biol. Chem., 161, 83, 1960
23. MURRAY R. SPIEGEL, Ph. D.
Teoria y problemas de estadística.,
Serie de compendios Shaum.,
Págs. 188-189 1976
24. NATIONAL COMMISSION ON MARIHUANA AND DRUG ABUSE
Drug use in America problem.
Second report
Washington D.C: GPO 481, 446
25. GRUN RONALD., HENRY W. ELLIOTT., ROBERT GEORGE
Annual rev. of Pharmacology. vol. 14
Ed. Committee.,, págs. 517-520 1974
26. PERSHOTAM P. MATHUR. ROBERT D. SMYTH. TIHAMER
HERCZEG AND NELSON H REAVERY-CANTWELL
Induction of hepatic enzymes by methaqualone and
effect on warfarin-induced hipoprothombinemia.
J. Pharmacol. Exp. ther 196: 204-212, 1976
27. REPORT OF A WHO SCIENTIFIC GROUP
Research in Pharmacology.
Wld. Hlth. Org. Tec. Rep. Ser., 371, 1967
28. REMMEN, E. AND COL.
Psychochemotherapy
Western Medical Publications.
Los Angeles, 1962

29. SHAW, M. W. S., THOMPSON, R. S.
Human chromosome damage by chemical agents.
Annu. Rev. Med. 21: 409-432 1970
30. SHANKEL D. M. AND CLARKE, C. H.
Antimutagenesis in microbial systems.
Bacteriol. Rev., 39: 33-53 1975
31. SCHNOLL, S. H., FISKIN, R. FALL.
J. Psychedelic drugs
5 (1): 79-80, 1972
32. SPECK LOUISE B.
Toxicity and effects of increasing doses
of mescaline.
Annu. Rev. Pharmacology.
Vol. 119: 78-84 1957
33. STRICKBERGER R. M.
Genética
Ed. Omega, Barcelona, España.
Págs. 249-273, 1978
34. SUTTIE JOHN W.
Fundamentos de bioquímica.
Ed. Interamericana S.A. de C.V., México 4 D.F.
Pág. 119 1979
35. TASKA RONALD J. AND JOSEPH C. SHOOLAR.
Placental transfer and fetal distribution
of mescaline -¹⁴C in monkeys.
J. Pharmacol. Exp. Ther 183: 427-432 1972

36. THOMPSON J. S., THOMPSON M. W.
Genética médica
Ed. Salvat. Mallorca, Barcelona, España
Págs. 5, 27-28, 31, 37, 47, 1975
37. WATSON J. D.
Molecular Biology of the gene.
Ed. W. A. Benjamin, Inc., New York
Págs. 169-175, 1970