

---

## MEDICIÓN DEL DAÑO GENÉTICO INDUCIDO POR EL BASUCO EN LINFOCITOS HUMANOS EMPLEANDO LA PRUEBA DE MICRONÚCLEOS CON CITOCALASINA B

EVALUATION OF THE GENETIC DAMAGE INDUCED BY BASUCO IN HUMAN LYMPHOCYTES USING  
THE MICRONUCLEUS TEST

Adriana Paola Ocampo<sup>1</sup>, Luz Stella Hoyos<sup>2</sup> y Silvio Carvajal<sup>3</sup>

### Resumen

El basuco es una mezcla compleja (droga psicoactiva) que se obtiene como derivado en el proceso de obtención de la cocaína. En esta investigación se empleó el basuco (pirolisado) para medir el daño genético inducido en linfocitos humanos, ya sea quiebre cromosómico o pérdida total de cromosomas, mediante la prueba de micronúcleos (MN). Linfocitos humanos (sangre total) de un donador joven, sano y no fumador, fueron empleados para detectar MN en células binucleadas después del tratamiento *in vitro* con tres concentraciones de basuco disueltas en agua destilada (0.92, 7.40 y 59.00 µg/ml), seleccionadas por pruebas de citotoxicidad (índice mitótico y tiempo promedio de generación celular). Se incluyeron los controles negativo (agua destilada) y positivo (mitomicina C, 50 µg/ml). Las células tratadas mostraron una diferencia significativa en el número de MN/célula binucleada con respecto al control ( $F = 10.37$ ,  $P < 0.005$ ) y se observó una clara relación dosis-efecto. Esto implica que el basuco es una mezcla compleja potencialmente genotóxica. Otras pruebas mutagénicas deben ser realizadas, especialmente en sistemas *in vivo* y en monitoreo de poblaciones humanas expuestas al basuco. Los resultados de esta investigación son útiles para prevenir a la población en riesgo expuesta a esta droga.

*Palabras clave:* micronúcleos, basuco, efectos genotóxicos, células binucleadas, *in vitro*, citocalasina B.

### Abstract

Basuco is a complex mixture (psychoactive drug) obtained as a derivative during the process of extracting cocaine. In this study, basuco (pirolisado) was tested to evaluate the genetic damage induced in human lymphocytes, in terms of both chromosome breakage or total loss, using the lymphocyte micronucleus (MN) test. Human lymphocytes (whole blood) obtained from a young female non-smoking donor were employed to detect MN in binucleated cells after *in vitro* treatment with three concentrations of basuco diluted in distilled water (0.92, 7.40 and 59.00 µg/ml), selected by cytotoxicity tests (the mitotic index and average cell generation time). Negative controls (distilled water) and positive controls (mitomicine C, 50 µg/ml) were also evaluated. Treated cells showed a significantly higher number of micronuclei in binucleated cells compared to controls ( $F = 10.37$ ,  $P < 0.005$ ) and an obvious dose-effect relationship was observed. This implies that basuco is a potentially genotoxic complex mixture. Other mutagenic tests should be conducted, especially employing *in vivo* systems and through the monitoring of human populations exposed to basuco. The results of this study justify warning exposed human populations of the risks of exposure to this drug.

*Key words:* micronuclei, basuco, genotoxic effects, binucleated cells, *in vitro*, cytochalasin B.

---

Recibido: mayo de 2002; aprobado para publicación: septiembre de 2002.

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Toxicología Genética y Citogenética, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, Universidad del Cauca, Popayán. E-mail: apocampo@ucauca.edu.co.

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Toxicología Genética y Citogenética, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, Universidad del Cauca, Popayán. E-mail: lshoyos@ucauca.edu.co.

<sup>3</sup> Grupo de Investigación en Toxicología Genética y Citogenética, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, Universidad del Cauca, Popayán. E-mail: carvajal@ucauca.edu.co.

## INTRODUCCIÓN

Una de las problemáticas más preocupantes en el país y en el departamento del Cauca es la producción y el consumo del basuco como droga alucinógena. El basuco es una mezcla compleja que contiene sulfato de cocaína, otros alcaloides de la coca, ecgonina, ácido benzoico, querosene, ácido sulfúrico, metanol, éter y otras sustancias empleadas para aumentar el peso (polvo de ladrillo, harina de pescado). Además, el basuco se consume mezclado con la picadura de cigarrillo, del cual ya se han identificado un buen número de agentes carcinogénicos. Se conocen los efectos del consumo de esta droga a corto plazo, tales como el estado de euforia, hambre, ansiedad, depresión, dolor de cabeza y mareos (Córdoba, 1994). Sin embargo, se desconocen los efectos a largo plazo, como los mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos. El basuco, por ser una mezcla compleja, puede tener efectos aditivos, potenciadores o sinérgicos en la inducción de potenciales efectos genotóxicos.

Burbano *et al.* (1996), en un estudio *in vitro*, evaluaron la genotoxicidad del basuco puro, de la picadura de cigarrillo y de la mezcla basuco-cigarrillo, y encontraron que las tres sustancias indujeron mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas y de intercambio de cromátides hermanas respecto al control (etanol al 50%). La toxicidad genética de la cocaína ha sido evaluada empleando la prueba de micronúcleos (MN) en la línea celular CHO-K1 de hámster chino (Chang-Tze *et al.*, 1999), revelando un efecto dosis-dependiente de inducción de MN en presencia de la fracción S9 ( $P < 0.01$ ). Un estudio en fumadores de marihuana y expuestos a cocaína mostró que estos individuos, al igual que los fumadores de cigarrillo, incrementan el riesgo para desarrollar cáncer de pulmón (Barsky *et al.*, 1998). Sin embargo, la literatura científica no reporta un estudio de la inducción de MN por la exposición al basuco. Luego, es prioritario realizar investigaciones que evalúen el potencial genotóxico del basuco en sistemas *in vitro* e *in vivo* y en poblaciones ocupacionalmente expuestas. El objetivo de este estudio fue evaluar los daños

genéticos (genotoxicidad) inducidos por el basuco en linfocitos humanos, empleando la prueba de micronúcleos con citocalasina B. El estudio dio respuesta a la pregunta de si el basuco inducía mayor número de MN en linfocitos de sangre periférica tratados con el basuco *in vitro*, con respecto al control. Se emplearon tres dosis de basuco (alta: 59.0  $\mu\text{g/ml}$ , media: 7.40  $\mu\text{g/ml}$  y baja: 0.92  $\mu\text{g/ml}$ ) para tratar linfocitos de sangre periférica total de un donador voluntario, sano, no fumador, de veinticuatro años y de sexo femenino. Se registraron MN en 2.000 células binucleadas por tratamiento y se analizaron estadísticamente mediante correlación y regresión lineal (programa SPSS). Los resultados de este estudio mostraron incremento significativo en el número de MN del grupo experimental con respecto al grupo control (agua destilada). Estos resultados serán divulgados y empleados en programas educativos para la inducción y motivación al no consumo de sustancias psicoactivas alucinógenas como el basuco.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Proceso de combustión del basuco.** Se indagó con consumidores de basuco rehabilitados de la Fundación El SHADDAI, ubicada en la vereda El Mango (Popayán, Cauca), sobre las formas de su consumo. Una de ellas es fumar e inhalar el humo de la combustión de la mezcla basuco y cigarrillo (pirolisado). Con base en esto, se diseñó un montaje que simulara la forma natural como se consume, quemando basuco puro mezclado con la picadura de cigarrillo (1:1) en un sistema cerrado. Este sistema constaba de un tubo de vidrio en el cual se introducía la papeleta de la mezcla. El tubo iba conectado a un erlenmeyer con desprendimiento lateral que contenía agua destilada. Al erlenmeyer se le ensambló un filtro miliporo húmedo al cual llegó el humo y las sustancias producidas en la combustión. A su vez, se conectó este filtro a una bomba de vacío, la cual simuló el efecto de fumado. La solución obtenida se filtró en condiciones estériles en cámara de flujo laminar, primero con filtro 0.45  $\mu\text{m}$  y luego con filtro 0.22  $\mu\text{m}$  para que quedara estéril, y se determinó su concentración, como se describe a continuación.

**Determinación de las concentraciones experimentales de basuco.** Se tomó un beaker de 25 ml y se limpió con acetona. Se puso a secar en estufa a 38 °C, se pesó en balanza analítica tres veces y se sacó un promedio de peso. Se agregó 1 ml de la solución obtenida de basuco y se sometió a evaporación en plancha caliente. Una vez evaporado, se desecó a temperatura ambiente por dos horas y se pesó de nuevo en balanza analítica tres veces. La concentración se determinó por diferencia de peso y se realizaron soluciones con un factor de dilución de 1/2 para obtener las concentraciones experimentales del basuco pirolisado en el medio de cultivo: 118.4, 59.0, 29.6, 14.8, 7.40, 3.70, 1.85 y 0.92 µg/ml.

**Toma de muestras de sangre.** Se tomaron asepticamente muestras de sangre periférica total con jeringa heparinizada para los diferentes grupos de cultivo. Para todos los tratamientos se emplearon linfocitos de un mismo donador, sano, no fumador, de veinticuatro años de edad y de sexo femenino.

**Pruebas citotóxicas para la selección de las concentraciones experimentales de basuco.** Los cultivos de sangre se establecieron agregando ocho gotas de sangre (0.5 ml) a los tubos de ensayo que contenían 5 ml de medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con 10% de suero bovino fetal, 2 mM de L-glutamina y fitohemaglutinina (0.1 ml).

*Índice mitótico:* a las 24 horas de establecidos los cultivos e incubados a 37 °C, se trataron con ocho concentraciones de las soluciones de basuco pirolisado. A cada cultivo de 5 ml se le agregaron 0.05 ml de cada solución. A las 70 horas de iniciados los cultivos se agregó a cada uno colchicina (0.05 ml), y dos horas más tarde se cosecharon las células. Las suspensiones celulares se centrifugaron a 1.000 rpm por 8 min y se removió el sobrenadante. Se agregaron 6 ml de solución hipotónica KCl 0.075M a cada cultivo y se incubó por veinte minutos en baño María a 37 °C. Se agregó inmediatamente 1 ml de fijador Carnoy (metanol-ácido acético 3:1) y se centrifugó de nuevo. Se removió el sobrenadante, se

resuspendieron las células suavemente y se agregó fijador hasta 5 ml. La suspensión celular se mantuvo a 4 °C durante 20 min, se centrifugó de nuevo a 1.000 rpm por 8 min, se removió el sobrenadante y finalmente se resuspendieron las células en poco fijador (esto se realizó tres veces). Las células se extendieron por goteo (dos a tres gotas) sobre cubreobjetos, se observaron al microscopio de luz y se colorearon por tinción directa con giemsa al 10% durante doce minutos. Se codificaron las placas y se registró el índice mitótico para cada tratamiento. El índice mitótico se calculó mediante la fórmula:

$$IM = (\text{No. de células en metafase} / 2.000 \text{ células}) \times 100$$

Se obtuvo una curva de índice mitótico vs. concentración y se seleccionaron las tres concentraciones experimentales de basuco: alta, media y baja (59.0, 7.40 y 0.92 mg/ml).

*Tiempo promedio de generación celular (TPGC):* se establecieron los cultivos en igual forma que para la prueba de índice mitótico. Seis horas después se trataron con bromodeoxiuridina (0.05 ml a cada cultivo). A las veinticuatro horas los cultivos fueron tratados con las tres concentraciones de basuco (alta, media y baja) más los controles positivo (mitomicina C) y negativo (agua destilada); a las 70 horas se le agregó a cada cultivo colchicina y dos horas más tarde se cosecharon las células por el mismo procedimiento que para el índice mitótico. Se realizó la tinción diferencial de cromátidas mediante el procedimiento modificado de Goto *et al.* (1975). Las placas se analizaron al microscopio y se identificaron células de primero, segundo y tercer ciclos según el patrón de incorporación de bromodeoxiuridina. Con este registro se determinó el tiempo promedio de generación celular (TPGC), mediante la fórmula:

$$NPC = (M1 + 2M2 + 3M3) / 100 \text{ metafases TPGC} = 48 \text{ horas} / NPC \text{ (Lamberti et al., 1983).}$$

En donde NPC es el número promedio de ciclos, determinado por el conteo de metafases en pri-

mero, segundo y tercer ciclos, en un total de 100 metafases.

**Prueba de micronúcleos con citocalasina B para evaluar efecto genotóxico.** Para evaluar el efecto genotóxico del basuco se establecieron los cultivos por duplicado y se mantuvieron a 37 °C en atmósfera húmeda. A las veinticuatro horas cada grupo de cultivo fue tratado con las dosis de basuco (alta: 59.0 µg/ml, media: 7.40 µg/ml y baja: 0.92 µg/ml) y con los controles positivo (mitomicina C) y negativo (agua destilada) y se incubaron a 37 °C. A las 44 horas de iniciados los cultivos se agregó a cada tubo 0.2 ml de citocalasina B (se usó luz amarilla) a una concentración de 6 µg/ml y se incubó de nuevo a 37 °C. Posteriormente, a las 66-72 horas de iniciados los cultivos se realizó la cosecha. Los cultivos fueron centrifugados a 1.000 rpm por 5 min, se removió el sobrenadante y se agregaron 3 ml de solución hipotónica KCl 0.075 M por un minuto. Inmediatamente se adicionó fijador Carnoy (metanol-ácido acético 3:1) bien frío y se centrifugó de nuevo (dos o tres veces). Se removió el sobrenadante y se resuspendieron las células en 0.5 ml de fijador. Sobre una placa bien fría se gotearon dos a tres gotas de la suspensión celular a 1 cm de altura, se colorearon con giemsa al 15% por 12 min y se montaron en forma definitiva con Entellan. Las preparaciones citogenéticas fueron observadas y analizadas al microscopio con objetivo de 40X. Se registraron las células utilizando los criterios establecidos para el registro de células binucleadas y de micronúcleos (Fenech, 2000). Se analizaron 4.000 células por cada tratamiento.

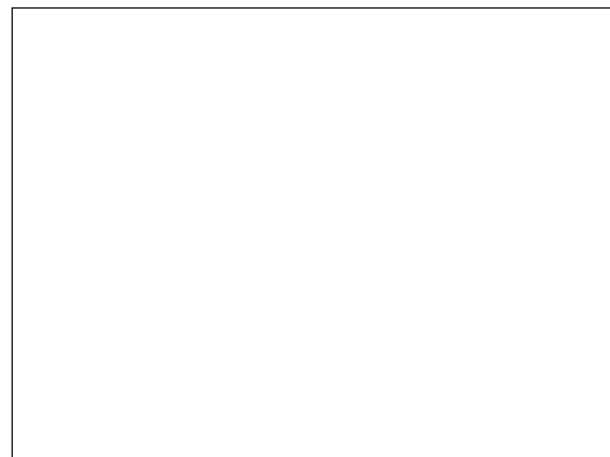
## RESULTADOS

**Citotoxicidad del pirolisado de basuco.** *Evaluación del índice mitótico.* En la tabla 1 se observa disminución del índice mitótico a medida que aumenta la concentración de basuco pirolisado; es decir, esta mezcla compleja está ejerciendo un efecto de retraso en el ciclo celular en linfocitos humanos. Al aplicar el análisis de correlación y regresión, se observa que la curva a la que mejor se adapta la asociación entre concentración de

basuco e índice mitótico es una curva exponencial ( $F = 25.13$ ;  $p = 0.01$ ) (figura 1). El coeficiente de determinación ( $r^2 = 0.611$ ) permite inferir que la variación observada en el índice mitótico se debe en 61% a la variación en la concentración.

**Tabla 1.** Índice mitótico (%) en linfocitos humanos tratados con las ocho concentraciones de basuco pirolisado y los controles negativo (agua) y positivo (Mitomicina C). Cada promedio (X) es el resultado de cuatro repeticiones del basuco pirolisado

Basuco (ug/ml)	Índice mitótico % ( X ± SD)
0	6.8 ± 1.2986
0.92	5.3 ± 2.1968
1.85	4.7 ± 1.9338
3.70	4.3 ± 1.6026
14.8	3.6 ± 2.1063
29.6	3.3 ± 1.6408
59.0	2.6 ± 1.4959
118.4	2.4 ± 1.5653
MMC	0.8



**Figura 1.** Depresión exponencial del índice mitótico en linfocitos humanos *in vitro*, expuestos a ocho concentraciones de basuco ( $F = 25.13$ ;  $p = 0.01$ )

Con base en los resultados de regresión antes expuestos, se seleccionaron las tres dosis experimentales de basuco pirolisado para la prueba de genotoxicidad. Éstas se escogieron teniendo en cuenta que la dosis baja presentó un índice mitótico similar al control, la dosis media disminuyó el índice mitótico en 45% y la dosis alta en 60% respecto del control negativo. Finalmente, las dosis seleccionadas fueron: dosis alta: 59.0 µg/

ml, media: 7.40  $\mu\text{g/ml}$  y baja: 0.92  $\mu\text{g/ml}$ . Con estas concentraciones se confirmó el efecto citotóxico del basuco pirolisado mediante su influencia en el tiempo promedio de generación celular (TPGC).

*Evaluación del tiempo promedio de generación celular (TPGC).* En la tabla 2 se puede observar que a medida que aumenta la concentración de basuco pirolisado, hay incremento significativo en el tiempo promedio de generación celular en horas; es decir, la sustancia está ejerciendo un efecto de retraso a nivel del ciclo. Los resultados con el control positivo (mitomicina C) no se incluyen en el análisis de regresión.

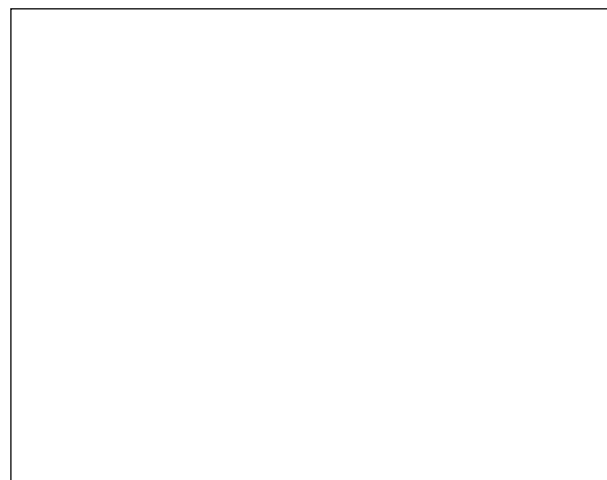
**Tabla 2.** Tiempo promedio de generación celular (horas) de linfocitos humanos *in vitro* tratados con las tres concentraciones de basuco pirolisado (alta: 59.0, media: 7.40 y baja: 0.92  $\mu\text{g/ml}$ ) y los controles negativo (agua destilada) y positivo (MMC). Cada promedio de horas (X) es el resultado de seis repeticiones

Basuco ( $\mu\text{g/ml}$ )	TPGC (horas: X $\pm$ SD)
0	30.9 $\pm$ 0.3061
0.92	33.6 $\pm$ 1.8096
7.40	35.7 $\pm$ 2.2400
59.0	43.2 $\pm$ 1.6753
MMC	48.6

En el análisis de regresión y correlación se observa que la curva a la que mejor se adaptan los resultados es a una curva de regresión lineal ( $F = 107.37$ ;  $p = 0.0001$ ) (figura 2). El coeficiente de determinación ( $r^2 = 0.830$ ) permite inferir que la variación observada en el tiempo promedio de generación celular se debe en 83% a la variación en la concentración de basuco pirolisado.

**Genotoxicidad del basuco: micronúcleos en células binucleadas.** En la tabla 3 se ve claramente un incremento en el número de micronúcleos en células binucleadas a medida que aumenta la concentración del basuco pirolisado, observándose clara relación dosis-respuesta positiva. Este resultado indica el efecto genotóxico de esta mezcla compleja en linfocitos humanos cultivados *in vitro*.

El análisis de regresión indica que la relación antes expuesta se acomoda a una ecuación lineal ( $F =$



**Figura 2.** Incremento lineal del tiempo promedio de generación celular de linfocitos humanos *in vitro* tratados con el control (0  $\mu\text{g/ml}$ ) y tres concentraciones de basuco (0.92, 7.40 y 59.0  $\mu\text{g/ml}$ ) ( $F = 107.37$ ;  $p = 0.0001$ )

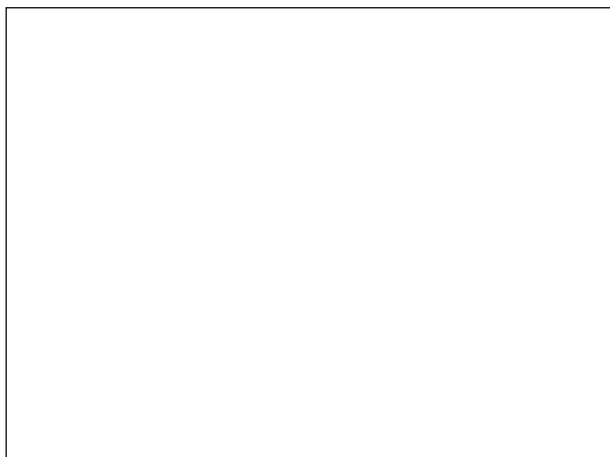
**Tabla 3.** Número de micronúcleos/célula binucleada en linfocitos humanos cultivados *in vitro*, tratados con las tres concentraciones de basuco (alta: 59.0, media: 7.40 y baja: 0.92  $\mu\text{g/ml}$ ) y los controles positivo y negativo. Cada promedio (X) es el resultado de seis repeticiones

Basuco ( $\mu\text{g/ml}$ )	Número de micronúcleos 2.000 células binucleadas (X $\pm$ SD)
0	3 $\pm$ 0.5774
0.92	14 $\pm$ 0.5774
7.40	18 $\pm$ 1.5275
59.0	22 $\pm$ 1.5275
MMC	32

10.37;  $p = 0.009$ ) (figura 3). El coeficiente de determinación ( $r^2 = 0.51$ ) permite inferir que la variación observada en el número de micronúcleos/célula binucleada se debe en 51% a la variación en la concentración de basuco. El conteo se realiza sólo en células binucleadas (figura 4).

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se concluye que el basuco induce incremento significativo en el número de MN/célula binucleada en todas las dosis (0.92, 7.40 y 59.0  $\mu\text{g/ml}$ ) con respecto al control negativo de 0  $\mu\text{g/ml}$  ( $p < 0.005$ ), lo que indica que el basuco es una mezcla compleja potencialmente genotóxica. Los linfocitos humanos han sido con-



**Figura 3.** Incremento lineal del número de micronúcleos/2.000 células binucleadas de linfocitos humanos *in vitro*, tratados con el control (0 µg/ml) y tres concentraciones de basuco (0.92, 7.40 y 59.0 µg/ml) ( $F = 10.37$ ;  $p = 0.009$ )



**Figura 4.** Células binucleadas de linfocitos humanos (BI), una célula binucleada con micronúcleo (MN). 100X

siderados como células centinelas para la identificación de efectos genotóxicos por su habilidad para acumular daños por largos periodos (Norman *et al.*, 1966; Bloom *et al.*, 1981). En el 85% de los laboratorios que trabajan en el mundo con la prueba de MN se emplean linfocitos de sangre total (Bonassi *et al.*, 2001). La prueba de MN es muy relevante para evaluar daños genéticos porque los MN provienen de quiebres cromosómicos o cromosomas totales que no se incorporan en el núcleo de las células hijas durante la división celular (Fenech, 2000) y son indicadores de exposición y de efecto a agentes genotóxicos (Fenech, 1995). Surrales *et al.* (1994) demostraron

que la concentración empleada de citocalasina B en este experimento (6 µg/ml) es más efectiva que la concentración estándar empleada (3 µg/ml). El método de MN por bloqueo de la citocinesis con citocalasina B posee ciertas ventajas que ya han sido discutidas por varios investigadores, siendo el procedimiento de preferencia para cuantificar MN en linfocitos humanos (Fenech y Morley, 1986; Prosser *et al.*, 1988; Channarayappa *et al.*, 1990). En este estudio se registraron los MN en 2.000 células binucleadas y la metodología internacional recomienda registrar 1.000 células binucleadas; esto le da mayor relevancia estadística a los resultados.

La prueba de MN se emplea para predecir potenciales riesgos de salud. Los MN han sido asociados con riesgo de cáncer porque pacientes con esta enfermedad presentan mayor número de ellos (Duffaud *et al.*, 1997). Es claro que los daños genéticos constituyen el evento inicial en el proceso de la carcinogénesis y son indicadores de riesgo de cáncer (McCann *et al.*, 1975). La actividad genotóxica de drogas como el basuco y la marihuana también puede deberse a los productos originados por la pirólisis durante el proceso de fumar. La duración del periodo de exposición se realizó teniendo en cuenta que esta mezcla compleja es desconocida en este tipo de pruebas y un periodo de exposición más corto puede conducir a baja predicción del efecto genotóxico (Sánchez *et al.*, 2000). El estudio realizado por Burbano *et al.* (1996), evaluando el daño citotóxico y genotóxico *in vitro* del basuco puro, el cigarrillo y la mezcla basuco-cigarrillo en linfocitos humanos, dio resultados positivos para la prueba de aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátides hermanas (ICHs). Se observó incremento significativo en la frecuencia de aberraciones cromosómicas a las concentraciones de basuco puro y la mezcla ( $p = 0.0000$ ). Los quiebres cromatídicos fueron los más frecuentes (70.25% para el basuco puro; 67.6% para la mezcla basuco-cigarrillo). El incremento significativo en el número de aberraciones para estas sustancias permitió concluir que tienen efecto genotóxico especialmente de tipo clastogénico. Estas sustancias también inducen un incremento en

la frecuencia de ICHs/metafase de linfocitos humanos a medida que aumenta la concentración de basuco y la mezcla ( $p = 0.001$ ). El sistema empleado por Burbano *et al.* para obtener las dosis experimentales fue un recipiente con destilación de reflujo y se empleó el solvente como control (solución etanólica al 50%). El sistema de quema del basuco pirolisado en este estudio fue ideado para las condiciones naturales como lo hace un consumidor y el disolvente empleado (control) fue agua destilada, teniendo en cuenta que los pulmones humanos están revestidos de este líquido y a través de él se difunden las sustancias. Cuando se seleccionan donadores para un estudio, la frecuencia de MN puede ser influenciada por factores como la edad, el sexo, la exposición ocupacional, etc. Se encuentra baja frecuencia de MN espontáneos en donadores jóvenes, sanos, no fumadores (Fenech *et al.*, 1999). Por la relación directa que existe entre producción de MN y daño genómico (Rudd *et al.*, 1988), el ensayo en células binucleadas aplicado a linfocitos humanos puede ser considerado como un método relevante para cuantificar daños cromosómicos inducidos (Fellay y Orsiere, 2000). Recientemente se ha sugerido que la prueba de MN se realice en lugar de la prueba de aberraciones cromosómicas para medir la genotoxicidad de químicos nuevos ya que es de fácil manejo, bajo costo y se evita la complejidad de analizar daños en metafases (Kirsh-Volders, 1997). La utilidad de la técnica de MN es cada vez mayor ya que

tiene aplicaciones en ecotoxicología, nutrición, sensibilidad a radiación, biomonitorio de poblaciones humanas y pruebas para medicamentos y agroquímicos, entre otras (Fenech, 2000).

## CONCLUSIONES

El basuco es una mezcla compleja que registró una clara genotoxicidad *in vitro* en linfocitos de sangre periférica total, en todas las dosis.

La prueba de micronúcleos empleando citocalasina B es una prueba útil para ser empleada en estudios *in vitro* e *in vivo* y en el monitoreo de poblaciones expuestas a diversos agentes químicos potencialmente genotóxicos, constituyéndose en un excelente biomarcador para predecir potenciales riesgos de salud como el cáncer.

Los resultados de esta investigación serán divulgados a la comunidad en general, especialmente en la población estudiantil, para lograr una motivación al no consumo de las drogas psicoactivas genotóxicas como el basuco.

## AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Cauca, por el importante apoyo financiero. Al Departamento de Biología y Unidad de Toxicología Genética y Citogenética, por el apoyo logístico.

## REFERENCIAS

- Bonassi S, Fenech M, Lando C, Lin Y, Ceppi M, Chang W, Holland N, Kirsch-Volders M, Zeiger E, Ban S, Barale R, Bigatti P, Bolognesi C, Jia C, Di Giorgio M, Ferguson L, Fucic A, García O, Hrelia P, Krishnaja A, Lee T, Migliore L, Mikhalevich L, Nirkova E, Mosesso P, Müller W, Odagiri Y, Scarfi M, Szabova E, Vorobtsova I, Vral A, Zijno A. 2001. Human micronucleus project: international database comparison for results with the cytokinesis-block micronucleus assay in human lymphocytes: I. Effect of laboratory protocol, scoring criteria and host factors on the frequency of micronuclei. *Environ Mol Mutagen* 37:31-45.
- Barsky S, Roth M, Kleerup E, Simmons M, Tashkin D. 1998. Histopathologic and molecular alterations in bronchial epithelium in habitual smokers of marijuana, cocaine and/or tobacco. *J Natl Cancer Inst* 90:1.198-1.205.
- Bloom A. 1981. Guidelines for studies of human populations exposed to mutagenic and reproductive hazards. *March of Dimes Birth Defects Foundation*. New York.
- Burbano L, Correa M, Gaon M. Estudio citotóxico y genotóxico *in vitro* del basuco, cigarrillo y su mezcla en linfocitos humanos sin activación metabólica. Popayán, 1996, 132 p. Trabajo de grado (Licenciatura en Educación, especialidad Biología). Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, Departamento de Biología.
- Córdoba D. 1994. *Toxicología*. 3ª. ed. Medellín, Colombia.
- Channarayana N, Ong T. 1990. Micronuclei assay in cytokinesis-blocked binucleated and conventional mononucleated methods in human peripheral lymphocytes. *Teratog Carcinog Mutagen* 10:273-279.
- Chang-Tze Y, Lee T, Wang T, Li J. 1999. Genetic toxicity of cocaine. *Carcinogenesis* 20 (7):1.193-1.199.
- Duffaud F, Orsiere T, Villani P, Pelissier A, Volot F, Favre R, Botta A. 1997. Comparison between micronucleated lymphocyte rates observed in healthy subjects and cancer patients. *Mutagenesis* 12:227-231.

- Fellay R, Orsiere T.** 2000. Evaluation of micronucleated lymphocytes, constitutional karyotypes and anti-p53 antibodies in 21 children with various malignancies. *Mutat Res* 467:31-39.
- Fenech M, Morley A.** 1986. Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: effect of *in vivo* ageing and low dose x-irradiation. *Mutat Res* 161:193-198.
- Fenech M.** 1995. The cytokinesis block micronucleus technique and its application to genotoxicity studies in human populations. *Env Health Perspectives* 101:101-107.
- Fenech M, Holland N, Wushou P, Zeiger E, Bonassi S.** 1999. The Human Micronucleus Project. An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res* 428:271-283.
- Fenech M.** 2000. The *in vitro* micronucleus technique. *Mutat Res* 455:81-95.
- Goto K, Akematsu T, Shimazu H, Sugiyama T.** 1975. Simple differential giemsa staining of sister chromatids after treatment with photosensitive dyes and exposure to light and the mechanism of staining. *Chromosoma* 53:223-230.
- Kirsch-Volders M.** 1997. The CB *in vitro* micronucleus assay in human lymphocytes. Special issue. *Mutat Res* 392:19-30.
- Lamberti L, Bigatti P, Ardito G.** Cell kinetics and sister-chromatid-exchange frequency in human lymphocytes. *Mutat Res* 120:193-199.
- McCann J, Choi E, Yamasaki E, Ames B.** 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the salmonella microsome test: assay of 30 chemicals. *Proc Natl Acad Sci USA* 72:5.135-5.139.
- Norman A, Sasaki M, Ottaman R.** 1966. Elimination of chromosome aberrations from human lymphocytes blood. 27:706.
- Prosser J.** 1988. Radiation induction of micronuclei in human lymphocytes. *Mutat Res* 199:37-45.
- Rudd N, Hoar D, Dimnik L, Hennig U.** 1988. Micronucleus assay in human fibroblasts: a measure of spontaneous chromosomal instability and mutagen hypersensitivity. *Environ Mol Mutagen* 12:3-13.
- Sánchez P, Llorente M, Castaño A.** 2000. Flow cytometric detection of micronuclei and cell cycle alterations in fish-derived cells after exposure to three model genotoxic agents: mitomycin c, vincristine sulfate and benzo-a-pyrene. *Mutat Res* 465:113-122.
- Surrales J, Antoccia A, Creus F, Degraffi F, Peris F, Tanzarella G, Xamena N, Marcos R.** 1994. The effect of cytochalasin B concentration on the frequency of micronuclei induced by four standard mutagens. Results from two laboratories. *Mutagenesis* 9:347-353.