

Defectos al nacimiento y alteraciones de la fertilidad por inhalación crónica de *thinner* de F0 que se manifiesten en F1, modelo en ratón*

Tte. Cor. M.C. Martha Patricia **Fernández-Guzmán**,** Tte. Cor. M.C. Mariana **Aragón-Flores**,***
Cap. 1/o. Pas. Med. José Pedro **Martínez-Zúñiga**,****Cap. 1/o. Pas. Med. José **Chavarín-San Román**,****
Cap. 1/o. Pas. Med. Natalia **Peraza-Ceceña*******

Escuela Médico Militar. Hospital Central Militar.
Centro de Investigación en Ciencias Aplicadas y Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional.
Ciudad de México.

RESUMEN

Antecedentes. Los inhalantes son sustancias tóxicas que causan daños a la salud.

Objetivo. Determinar las lesiones sistémicas causadas por la exposición crónica en ratones a solventes.

Método. Se estudiaron 48 ratones hembras y ocho machos *Mus musculus*, cepa CD-1, divididos en grupos control y estudio, expuestos a inhalación de agua y *thinner*, respectivamente, 10 minutos diarios, 40 días antes y durante la gestación y la lactancia. Se determinó tiempo de fecundidad, fertilidad, interrupción de gestación, número de crías, curva ponderal de peso. Las madres y sus productos se sacrificaron, se realizó estudio histológico de sistema nervioso central, hígado, pulmón, riñón y ovario.

Resultados. Existen diferencias estadísticamente significativas entre tiempo de fecundidad, fertilidad, interrupción de gestación, ganancia ponderal al final de la gestación, número y peso de las crías entre grupos control y de estudio. No se encontraron alteraciones morfológicas macroscópicas. Las alteraciones histológicas observadas fueron más severas en los productos y se caracterizaron por: necrosis y atrofia neuronal; degeneración grasa hepática con tendencia a cirrosis; engrosamiento de la barrera alveolo capilar, fibrosis y enfisema pul-

Birth defects and fertility disorders caused by chronic exposure to thinner of F0 showed by F1, mice model

SUMMARY

Background. Thinner is a toxic substance which causes injuries to health.

Objective. To determine systemic injuries secondary to dynamic exposure of mice to thinner.

Material and method. Forty eight female and eight male *Mus musculus*, stump CD-1, mice were studied. They were divided in control and study groups; they were exposed to inhalation of water and thinner, respectively, 10 minutes per day, 40 days before the gestation, during the gestation and the nursing. Time of fecundity, time of fertility, interruption of the gestation, number of breedings, curved of weigh were determined. The obtained products and the mothers were sacrificed and histopathological study of central nervous system, liver, lung, kidney and ovary was carried out.

Results. There were significant statistical differences among time of fecundity, time of fertility, interruption of the gestation, gain of weight to the end of the gestation, number of breedings and weight of the same ones. They were not macroscopic morphological alterations. The tissue alterations observed were of

* Trabajo de Investigación, Mención Honorífica en el Examen de Tesis el 6 de abril de 2002, Escuela Médico Militar. ** M. en C. en Morfología, Jefe de la Sección de Laboratorios, Bioterio y Apoyos Didácticos de la Escuela Médico Militar, Catedrática de la materia de Embriología de la misma institución. *** M.C. Especialista en Patología, Jefe del Departamento de Patología del Hospital Central Militar. **** Alumnos del 6to. año de la carrera de Medicina en la Escuela Médico Militar.

Correspondencia:

Dra. Martha Patricia Fernández Guzmán

Escuela Médico Militar. Cda. de Palomas s/n, Col. Lomas de Sotelo, México, D.F.

Recibido: Junio 21, 2002.

Aceptado: Julio 5, 2002.

monar; daño de conductos colectores y glomérulos renales, cilindruria y hematuria.

Palabras clave: fertilidad, thinner, atrofia neuronal.

more magnitude in the generation F1 and they were characterized in general by neuronal necrosis and atrophies; hepatic fatty degeneration with tendency to the cirrhosis; augment of the alveolus-capillary barrier, fibrosis and lung emphysema; damage of the collectors conduits and renal glomeruli with cylindruria and hematuria.

Key words: Fertility, thinner, neuronal atrophies.

Introducción

Por sus propiedades físicas, químicas o físico-químicas, los inhalantes, entre los cuales se incluyen solventes industriales, se utilizan para elaborar productos. Todas estas sustancias son tóxicas y la mayor parte de las veces se utilizan mezcladas, aumentando su toxicidad. Las personas que las inhalan en el trabajo, en forma accidental o voluntaria, presentan daño a la salud.¹⁻⁴

La mayor parte de solventes que mezclados constituyen el *thinner*, derivan del petróleo, o productos petroquímicos refinados. En el comercio el *thinner* se clasifica en términos de calidad: alta, media o baja.⁵ Para la determinación de la composición del *thinner*, el método más valioso y exacto es la cromatografía en fase gaseosa, que permite realizar análisis cualitativo y cuantitativo con rapidez y precisión. Entre las sustancias que se encuentran en mayor cantidad en el *thinner* están: metanol, acetona, butanol, pentanona, tolueno, etilbenceno, benceno, p-xileno.

Benceno: excelente solvente, muy tóxico, utilizado para sintetizar productos químicos y constituyente natural de combustibles para automóvil.⁶ Se le ha relacionado con mayor riesgo de leucemia.^{7,8}

Tolueno: solvente en pinturas, barnices, pegamentos, esmaltes y lacas; sustancia intermedia en la síntesis de compuestos orgánicos. Aunque menos tóxico que el benceno y xileno, produce narcosis, depresión del sistema nervioso central y muerte.⁹ La inhalación de tolueno por ratones machos, ocasiona efectos adversos en la función reproductiva, disminución de la espermatogénesis y alteraciones en la motilidad espermática que conllevan a disminución de la fertilidad. Se demostró, además, alteración hipofisiaria y disminución en la secreción de hormona luteinizante.⁹⁻¹³

Metanol: los síntomas de intoxicación por alcohol metílico son: irritación de los ojos, fosas nasales y garganta; vómito, dolor de cabeza, respiración difícil y pérdida de conciencia.^{14,15}

Acetona: disolvente del acetileno, celuloide y lacas y en la industria del plexiglás. De rápida absorción, difunde a los tejidos; se detecta en el aliento a los 15 minutos y en orina una hora después.¹⁶

Xileno: se utiliza en gasolina de aviación, solvente para lacas, esmaltes, cementos de caucho, síntesis para varios químicos orgánicos y plaguicidas. Su inhalación produce vértigo, somnolencia, dolor de cabeza y pérdida del conoci-

miento. La ingestión de esta sustancia da sensación de quemadura y dolor abdominal.⁷

Material y método

Se utilizaron 56 (48 hembras y ocho machos) ratones de cepa *Mus musculus* CD-1, peso inicial 22-25 g mantenidos en condiciones de temperatura y presión constantes, ciclos luz-oscuridad 12-12 horas, alimentados con Lab Diet (Prolab) y agua *ad libitum*. Se realizó curva de ganancia ponderal desde el inicio del estudio hasta el término de la gestación.

Se dividieron en dos grupos: 14 hembras en el grupo control y 34 hembras expuestas a inhalación crónica de *thinner*, se dejaron en sus jaulas 15 días para aclimatación. Se distribuyó un macho por cada seis hembras. Las hembras se mantuvieron separadas del macho hasta completar la fase de inhalación pregestacional de 40 días; posteriormente se les realizó Papanicolaou para determinar etapa del ciclo sexual para monta corta. Se contó como día cero de gestación a la detección de espermatozoides en secreción vaginal determinada por frotis de Papanicolaou. Para todos los grupos se estimó el tiempo de gestación a partir del día 0 y hasta las 08:00 horas del día del nacimiento.

Condiciones de inhalación: en el grupo control se incluyeron dos machos no expuestos y seis ratones hembras (por corrida) que se introdujeron en una cámara de inhalación de 10,353 cc de capacidad, a la cual se inyectó aire mediante un tubo de cristal, insertado en la cara superior de la cámara, procedente de un matraz Erlenmeyer con 5 mL de agua, burbujeando mediante una bomba de aire marca Máxima, 115 volts, 60 hertz, 4.5 watts, salida de aire 2,500 cc/min * 2, P.S.I. 2.5.¹⁷ El tiempo de exposición fue de 10 min/día, dosis única, 40 días. Durante este tiempo los animales se mantuvieron en el sistema de cámara cerrada para inhalación de tóxicos, la cual tenía múltiples perforaciones de 1 mm de diámetro (suma total mayor al diámetro de entrada del tubo de administración del inhalante).

El grupo experimental estuvo constituido por seis machos no expuestos y 34 hembras manejadas en las mismas condiciones de exposición en la jaula de inhalación, sólo que el matraz Erlenmeyer contenía *thinner* en lugar de agua.

El *thinner* se obtuvo en su totalidad y a granel en una tlapalería de la colonia Reforma Social, México, D.F., se sometió a cromatografía de gases y líquidos para determinar grado de pureza y sustancias constituyentes (*Figuras 1 y 2*).

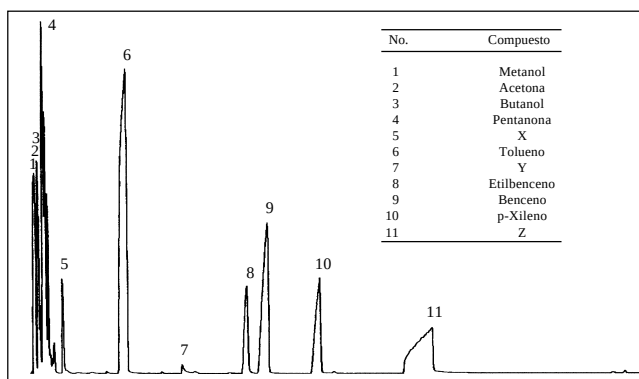


Figura 1. Cromatografía del *thinner* en fase líquida que muestra la composición del *thinner* obtenido en una tlapalería de la colonia Reforma Social, delegación Miguel Hidalgo, D.F., y con el cual se realizó este estudio. Se demuestra que los componentes que están en mayor proporción son: metanol, acetona, butanol, pentanona, tolueno, benceno, p-xileno.

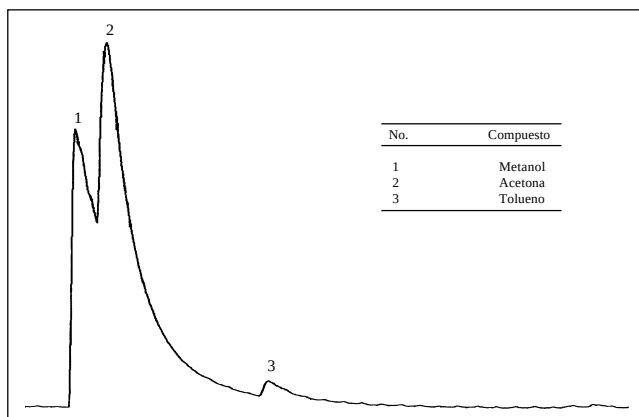


Figura 2. Cromatografía de *thinner* en fase gaseosa que muestra la composición del *thinner* obtenido de la cámara de inhalación de gases en la cual se demuestra los componentes del *thinner* que se encuentran en mayor proporción: metanol, acetona y tolueno.

Cuando las hembras completaron 40 días de inhalación de agua o *thinner*, se inició la fase de apareamiento con base en la técnica de Papanicolaou para monta corta y se continuó con las condiciones de inhalación señaladas con anterioridad durante toda la gestación. A la generación F1 se le efectuó determinación de peso y revisión de características macroscópicas para valorar malformaciones congénitas al momento del nacimiento. Las madres continuaron la exposición durante la lactancia, no así los productos. Una vez terminada ésta, se sacrificó a las madres.

Las ratonas de la generación F0 y la camada F1 se anestesiaron con cloroformo. Se les realizó incisión ventral media y se colocó un catéter en ventrículo izquierdo a través del cual se lavó el aparato circulatorio con solución salina heparinizada, para fijación con formol al 10%. Se obtuvieron muestras de sistema nervioso central, hígado, pulmón, riñón y ovarios, se colocaron en formol al 10%, se procesaron para estudio histológico y se tiñeron con técnicas de hematoxilina-eosina y de Río Hortega para Sistema Nervioso Central.

Se tomaron fotografías de las muestras más significativas en un fotomicroscopio Karl Zeiss, las cuales fueron interpretadas por un patólogo y un morfológico.

Los resultados obtenidos se agruparon en tablas de concentración, obteniéndose medidas de tendencia central; se analizaron mediante pruebas de t de Student para muestras independientes, con el programa SPSS Versión 10 para Windows, tomando como significativos valores de $p < 0.01$.

Resultados

Las cromatografías de fases gaseosa y líquida efectuadas al *thinner*, indicaron sus componentes, pero no la cantidad o porcentaje de los mismos (*Figuras 1 y 2*), para su realización se utilizó un cromatógrafo marca Perkin-Elmer, modelo autosystem XL, columna HP-PONA, longitud 50 m, diámetro interno, 0.2 mm, filma 0.5 μ .

El peso al inicio del estudio del grupo control fue 23.6 ± 1.64 ; y del grupo de estudio 24.59 ± 1.98 , $t = 1.604$, $p = 0.116$. Al final del estudio el peso del grupo control fue 30.94 ± 1.82 y del expuesto 29.20 ± 1.79 ; $t = 3.041$, $p = 0.002$.

El tiempo promedio para el inicio del embarazo (tiempo de fecundidad, considerado del proestro hasta muestra de Papanicolaou positiva a espermatozoides) fue: 4 ± 0.78 días para el grupo control; 8 ± 2.07 días para el expuesto, $t = 6.976$, $p < 0.0001$.

En el grupo de estudio se observó falta de progresión del embarazo en 14 (41.17%) hembras con Papanicolaou positivo a monta, ganancia ponderal progresiva y súbito decremento del peso, con ausencia de productos. En el grupo control no se observó este fenómeno.

El tiempo promedio de gestación, considerado a partir del día 0 fue 21 ± 1.11 días para el grupo control; 17.35 ± 3.37 días para el expuesto, $t = 3.935$, $p < 0.0001$.

El número de crías fue 5 ± 0.88 para el grupo control; 1.91 ± 1.98 para el expuesto, $t = 5.6$, $p < 0.0001$.

El peso de los productos fue 1.88 ± 0.177 g para el grupo control; 1.635 ± 0.220 g para el expuesto, $t = 5.30$, $p < 0.0001$.

Durante el desarrollo del estudio no hubo mortalidad materna en ninguno de los grupos.

No se observaron alteraciones macroscópicas en los productos de ambos grupos.

El estudio histológico de madres y productos del grupo control no mostró alteraciones en sistema nervioso central, hígado, pulmón, riñón y ovario.

El estudio histológico de las madres y productos del grupo expuesto demostró las siguientes alteraciones:

En las madres la corteza cerebral presenta atrofia cortical de magnitud variable de acuerdo con las diferentes regiones (*Figuras 3 y 4*), atrofia de las capas cerebelosas a expensas de destrucción de células de Purkinje y fibras nerviosas, en tallo cerebral adulto se manifiesta destrucción de fibras nerviosas, áreas de infiltrado de glía, lo que produce áreas extensas de devastación ocupadas por tejido conjuntivo. Estos efectos son más severos en cerebros de neonatos (*Figura 5*).

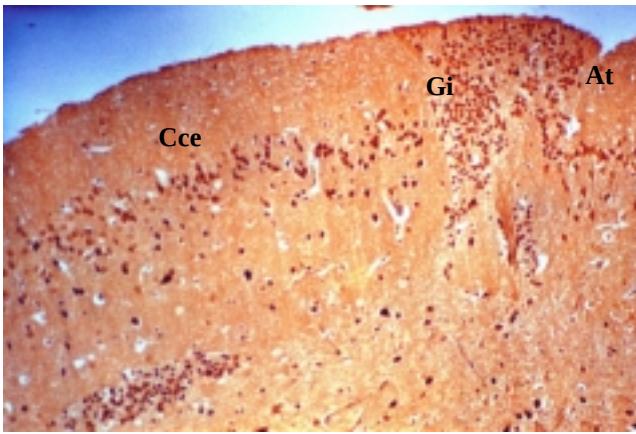


Figura 3. Fotografía de corteza cerebral de ratón neonato en la que se aprecia atrofia cortical e infiltrado de la glía, zonas extensas de devastación y vacuolización citoplásmica. Las fibras neuronales están alteradas, engrosadas y tienen un curso tortuoso. Corteza cerebral (Cce), atrofia (At), infiltrado gliar (Gi) (Río Ortega, 160x).

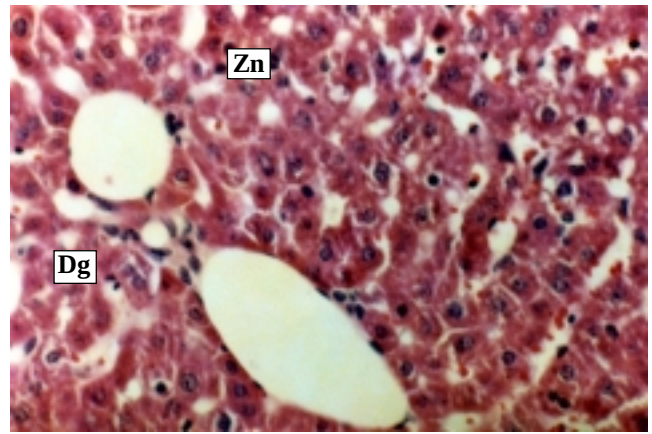


Figura 6. Fotografía de hígado de ratón adulto en la cual se observan zonas de necrosis y degeneración grasa. Zona de necrosis (Zn), degeneración grasa (Dg) (H-E, 160x).

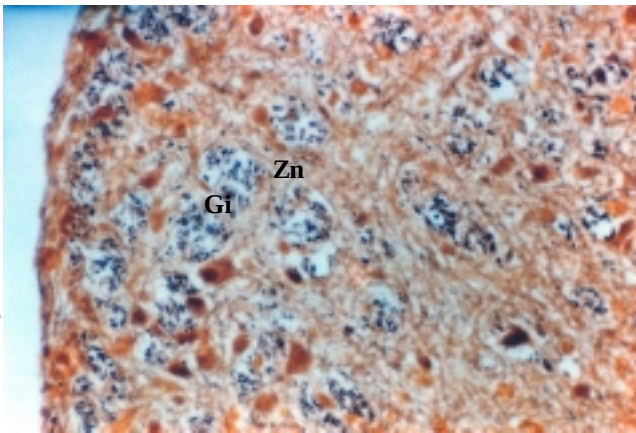


Figura 4. Fotografía de corteza cerebral de ratón neonato en la que se observan zonas de movilización de microglia y formación de nódulos en áreas necróticas. Glía (Gi), zonas de necrosis (Zn) (Río Ortega, 25.2x).

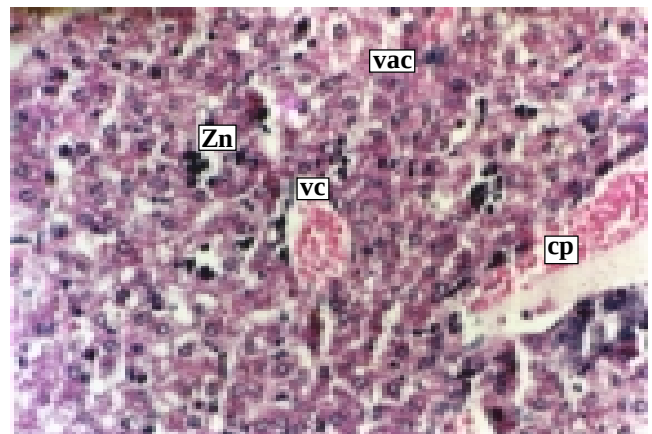


Figura 7. Se observa la vena perdida de la disposición radial de los hepatocitos alrededor de la vena central. La vena centrolobulillar está dilatada; hay necrosis de los hepatocitos, los cuales presentan además vacuolización y picnosis, infiltrado inflamatorio linfocitario. Vacuolización (vac), conducto portal (cp), infiltrado inflamatorio (li), vena centrolobulillar (vc), zona de necrosis (Zn) (H-E, 64x).

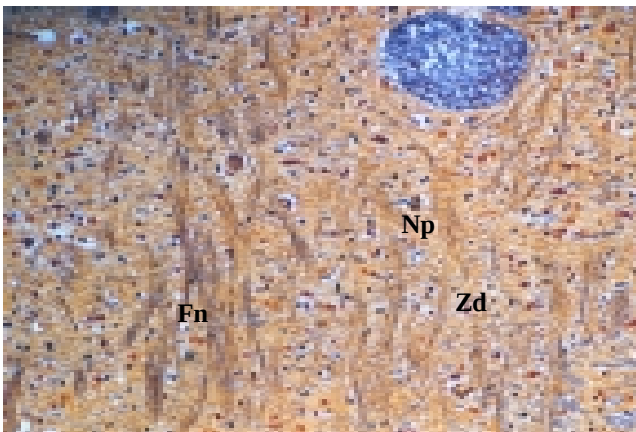


Figura 5. Fotografía de tallo cerebral en la que se observan zonas de infiltrado inflamatorio. Las fibras nerviosas se encuentran retraídas, engrosadas, irregulares. Se observan gránulos de Nissl. Zonas de devastación (Zd), Glía (Gl), fibras nerviosas (Fn) (Río Ortega, 160x).

En el hígado adulto las venas centrolobulillares, así como las que confluyen en ella y el conducto portal se encuentran dilatados y congestivos, lo que da como consecuencia compresión de trabéculas hepáticas (Figura 6). En el hígado neonatal la arquitectura radial de los hepatocitos alrededor de la vena central se encuentra perdida en algunos segmentos (Figura 7).

En el aparato respiratorio adulto, el epitelio de tráquea, bronquios y bronquiolos se observa descamado, con inclusiones celulares y edema de submucosa. El tejido pulmonar tiene tabiques interalveolares engrosados de manera desigual, fibrosis con disminución de la luz o colapso alveolar, zonas enfisematosas extensas e irregulares (Figuras 8 y 9). Los cambios son más considerables en el neonato con tendencia a la fibrosis y presencia de macrófagos activados.

En el riñón adulto los túbulos contorneados presentan disminución de la luz, edema intersticial e infiltrado linfocitario (Figura 10); los vasos sanguíneos intersticiales están muy dilatados y congestivos, con zonas extensas de hemorragia

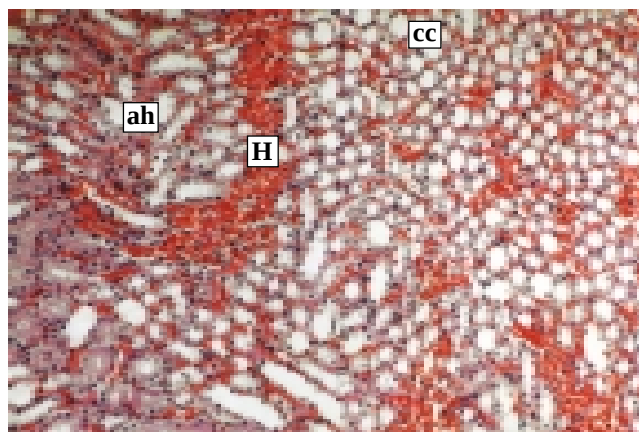
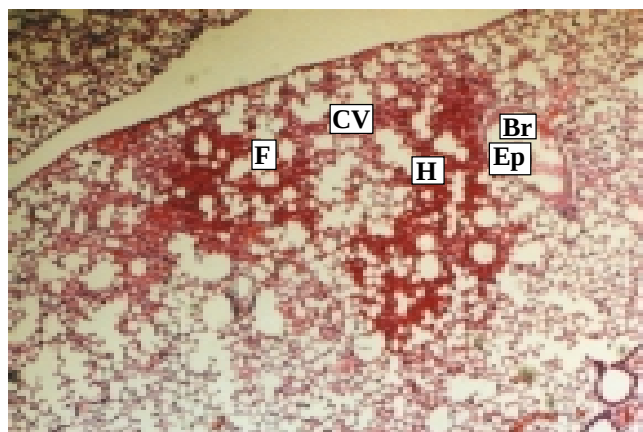


Figura 8. Fotografía de pulmón de ratón adulto en la cual se observan zonas de fibrosis, vasos sanguíneos comprimidos y congestivos, con zonas de hemorragia intersticial difusa. El epitelio de los bronquios se ve con descamación. Epitelio (Ep), bronquio (Br), hemorragia (H), fibrosis (F), congestión vascular (CV) (H-E, 40x).

Figura 10. Fotografía de una preparación de médula renal de ratón adulto en la cual se distinguen conductos colectores, con zonas de desprendimiento. Los capilares se observan sumamente dilatados y congestionados, con áreas de hemorragia intersticial difusa. En el intersticio se aprecian zonas de infiltrado inflamatorio linfocitario. Hemorragia (H), conductos colectores (cc), asa de Henle (ah) (H-E, 64x).

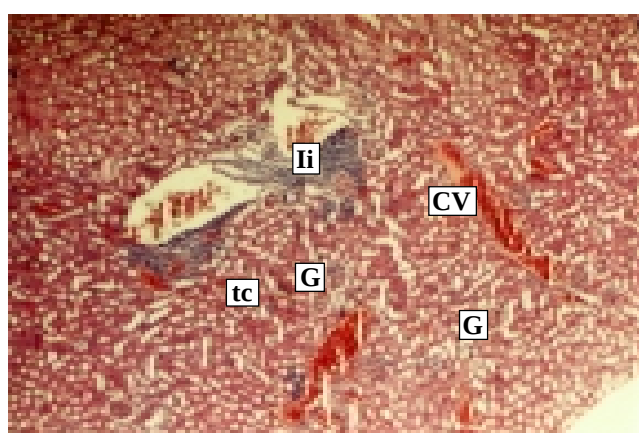
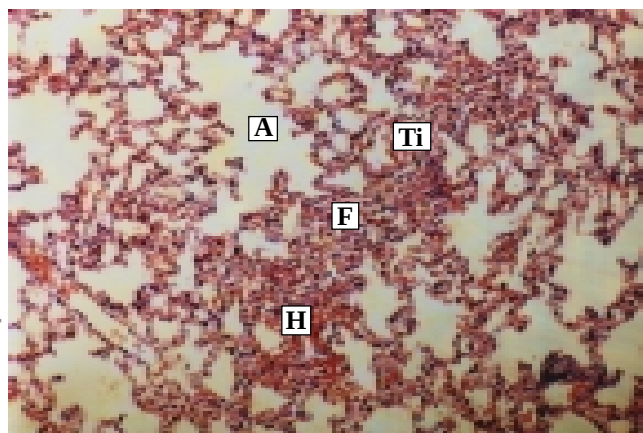


Figura 9. Fotografía de pulmón de ratón adulto en la cual se observan tabiques interalveolares engrosados y fibrosos con pérdida de la luz alveolar en algunas zonas. Presencia de zonas hemorrágicas y zonas enfisematosas por pérdida de la anatomía normal del pulmón. Hemorragia (H), fibrosis (F), tabique interalveolar (Ti), alveolo (A) (H-E, 64x).

Figura 11. Fotografía de riñón neonatal en la cual se observan glomerulos y túbulos contorneados, vasos capilares dilatados, congestivos y abundantes zonas de infiltrado linfocitario severo. Túbulos colectores (tc), vasos congestivos (VC), infiltrado inflamatorio (li), glomérulo (G) (H-E, 25.2x).

difusa que llegan a abarcar la luz de los túbulos colectores ocasionando en el riñón neonatal las alteraciones histológicas, son similares pero más severas (Figura 11).

Los ovarios muestran folículos en diferentes grados de maduración. En algunas regiones se ven folículos con datos compatibles con muerte o degeneración del ovocito, crecimiento irregular y engrosamiento excesivo de la teca fibrosa. Los cuerpos amarillos tienen apariencia normal. En el intersticio se localizan vasos sanguíneos abundantes, dilatados y llenos de hematíes (Figura 12).

Discusión

La inhalación de tolueno, durante la gestación, se ha asociado a defectos del sistema nervioso central, decremento del peso fetal, embriofetalidad, prematuridad, hipoplasia cere-

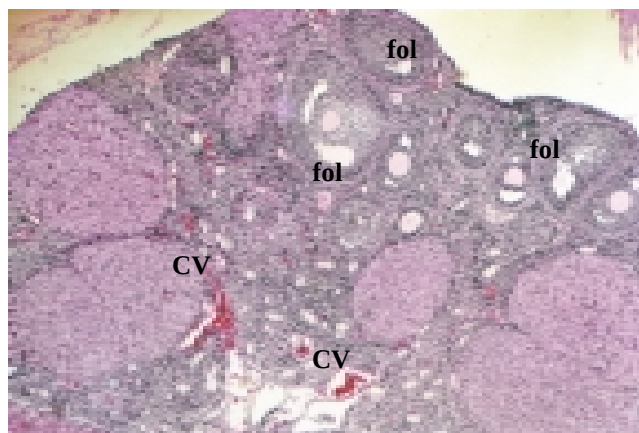


Figura 12. Fotografía de ovario adulto en la que se observan folículos en diferentes etapas del desarrollo de apariencia normal, y congestión vascular. Folículos (fol), congestión vascular (CV) (H-E, 40.3x).

belar y anomalías congénitas múltiples. Esta sustancia es un componente del *thinner* investigado en este estudio y podría explicar las alteraciones observadas.¹⁸

En jóvenes y adultos el daño del sistema nervioso central por inhalación de *thinner*, consiste en: marcada variación en el grosor de la mielina de las fibras nerviosas, algunas de las cuales presentan edema intenso de axones, apariencia fenestrada o arrosariada. El mecanismo exacto por el cual el *thinner* produce neuropatía es desconocido. Barroso Moguel^{19,21} sugirió que esta sustancia destruye gran cantidad de la grasa que rodea la mielina, por lo que las fibras nerviosas presentan degeneración y comienzan a atrofiarse, experimentando desmielinización temprana, por lo que se lesiona o destruye la neurona central (cefálica o medular) de manera irreparable. Este efecto es mayor en etapa fetal cuando las fibras nerviosas están en proceso de mielinización, lo que explica la mayor severidad del daño.

Debido a que una de las funciones hepáticas es desintoxicar las sustancias extrañas y el metabolismo de elementos que le llegan transportados por sangre, las lesiones hepáticas se producen desde el principio de la inhalación de *thinner* como se demostró en este estudio.^{19,20} Algunos autores indican, sin embargo, que debido a la tendencia biológica que tiene el hígado a regenerarse, este órgano soporta por más tiempo el daño que le produce el *thinner* en las inhalaciones continuadas y tiende a desarrollar cirrosis por proliferación del tejido conjuntivo fibroso a partir de la vena centrolobulillar, con desaparición de vasos sinusoides.²² Este hecho no se observó en este estudio debido a que el tiempo de exposición posiblemente no fue lo suficientemente prolongado. Aunque ya se observan datos de daño progresivo e irreversible, caracterizados por compresión y necrosis de hepatocitos, los cuales presentan zonas vacuoladas y degeneración grasa, persisten zonas de mitosis activa. En los recién nacidos se incrementan las células de Kupffer y las figuras mitóticas.

En los pulmones de los neonatos expuestos *in utero* a *thinner* se observa engrosamiento anormal de tabiques secundarios que dividen los sacos alveolares, los cuales presentan además disminución inicial de neumocitos tipo I, congestión vascular severa e infiltrado inflamatorio, lo cual nos indica la existencia de un compromiso respiratorio importante que podría llevar a la insuficiencia respiratoria en etapa temprana de la vida.^{20,23}

El daño hepático y pulmonar de las madres expuestas durante la gestación, posiblemente es responsable de la diferencia significativa en la ganancia ponderal entre los grupos expuesto y control. Además, de manera independiente se ha reportado que el *thinner* disminuye el apetito en animales expuestos.

Las alteraciones observadas en conjunto en órganos vitales del producto, probablemente sean las responsables de la muerte temprana y reabsorción fetal observada en este estudio, además del peso significativamente menor y la reducción del tiempo de gestación y prematuridad.

Agradecimientos

Al C. Doctor en Ciencias Samuel Siles Alvarado, y a la C. Ingeniero en Alimentos Mónica Centeno Álvarez, del

CICATA-IPN, por su valiosa colaboración en la realización de las cromatografías del *thinner* utilizado en esta investigación, las cuales fueron indispensables para poder fundamentar los hallazgos encontrados en esta investigación.

Referencias

1. Agnesi R, Valentini F, Mastrangelo G. Risk of spontaneous abortion and maternal exposure to organic solvents in the shoe industry. *Int Arch Occup Environ Health* 1997; 69: 311-6.
2. Albert L. Curso básico de toxicología ambiental. 1ª Ed. Limusa 1988; p. 247-65.
3. Colotla VA, Lorenzana M, Rodríguez R. Toward a behavioral toxicology of paint *thinner*. *Neurobehav Toxicol* 1980; 2(1): 31-6.
4. Drogas, prevención y consumo. Claves para la vida, Ed. Barsa 1999; 437-50.
5. Rojas GE, Fleiz BC, Medina MIME, et al. Consumo de alcohol y drogas en estudiantes de Pachuca, Hidalgo. *Salud Pública Mex* 1999; 41(4): 297-308.
6. Yamada K. Influence of lacquer thinner and some organic solvents on reproductive and accessory reproductive organs in the male rat. *Biol Pharm Bull* 1993; 16(4): 425-7.
7. Hudak A, Ungvary G. Embryotoxic effect of benzene and its methyl derivatives: Toluene, xylene. *Toxicology* 1978; 11: 55-63.
8. Ungvary G, Tatrai E. On the embryotoxic effects of benzene and its alkyl derivatives in mice, rats and rabbits. *Arch Toxicol* 1985; 8: 425-30.
9. Slomianka L, Edelfors S, Ravn JA, Rungby J, Dansher G, West MJ. The effect of low-level toluene exposure on the developing hippocampal region of the rat: Histological evidence and volumetric findings. *Toxicology* 1990; 62: 189-202.
10. Georgiane LA, et al. Toluene embryopathy: Clinical delineation and developmental follow-up. *Pediatrics*, 1994; 93: 216-220.
11. Khatatak S, McMartin K, Barrera M, Kennedy D, Koren. Pregnancy outcome following gestational exposure to organic solvents. *JAMA* 1999; 281: 1106-9.
12. Thiel R, Chahoud I. Postnatal development and behaviour of Wistar rats after prenatal toluene exposure. *Arch Toxicol* 1997; 71: 258-65.
13. Wilking L, Haug. Teratogen update: Toluene. *Teratology* 1997; 55: 145-51.
14. Parada TIM, Hernández PP, Arredondo LA, et al. Financiamiento de programas de farmacodependencia en la Ciudad de México: 1990-1994. *Salud Pública Mex* 2000; 42(2): 118-25.
15. Pearson M, et al. Toluene embryopathy: Delineation of the phenotype and comparison with fetal alcohol syndrome. *Pediatrics* 1994; 93: 211-4.
16. Curtis D. Klaassen. *Toxicology, The basic science of poisons*. 5ª. Ed. Ed. Mc GrawHill; 1996, p. 737-47.
17. Cruz PMS, Estrada SD, Villalba SR. Curva dosis respuesta a inhalación aguda de thinner en ratón. Tesis, Escuela Médico Militar, 2000.
18. Hersh J. Toluene embryopathy. *Pediatrics* 1985; 106: 922-7.
19. Barroso R, Villeda J, Méndez M. Teratologic cranio-encephalic effects of chronic thinner inhalation in progenitors, in rats and humans. *Gac Med Mex* 1991; 127(6): 493-500.
20. Barroso MR, Romero VJ. Thinner: Inhalación y consecuencias. México: Fundación de Investigaciones Sociales A.C., 1998.
21. Proccop M, Hooper GS. Pathology of lacquer thinner induced neuropathy. *Ann Clin Lab Sci* 1976; 6(3): 240-50.
22. Chen J, Wang J, Jang J y cols. Exposure to mixtures of solvents among paint workers and biochemical alterations of liver. *British J Industrial Med* 1991; 48: 696-701.
23. Cisneros D, Gutiérrez ML. Daño pulmonar por inhalación de solventes industriales. Universidad del Ejército y Fuerza Aérea. Escuela Médico Militar 1982; 2-14.
24. Barroso MR, Méndez AM, Villeda HJ. Efectos teratológicos craneo-encefálicos por inhalación crónica de *thinner* de los progenitores, en ratas y humanos. *Gac Med Mex* 1991; 127(6): 493-500.