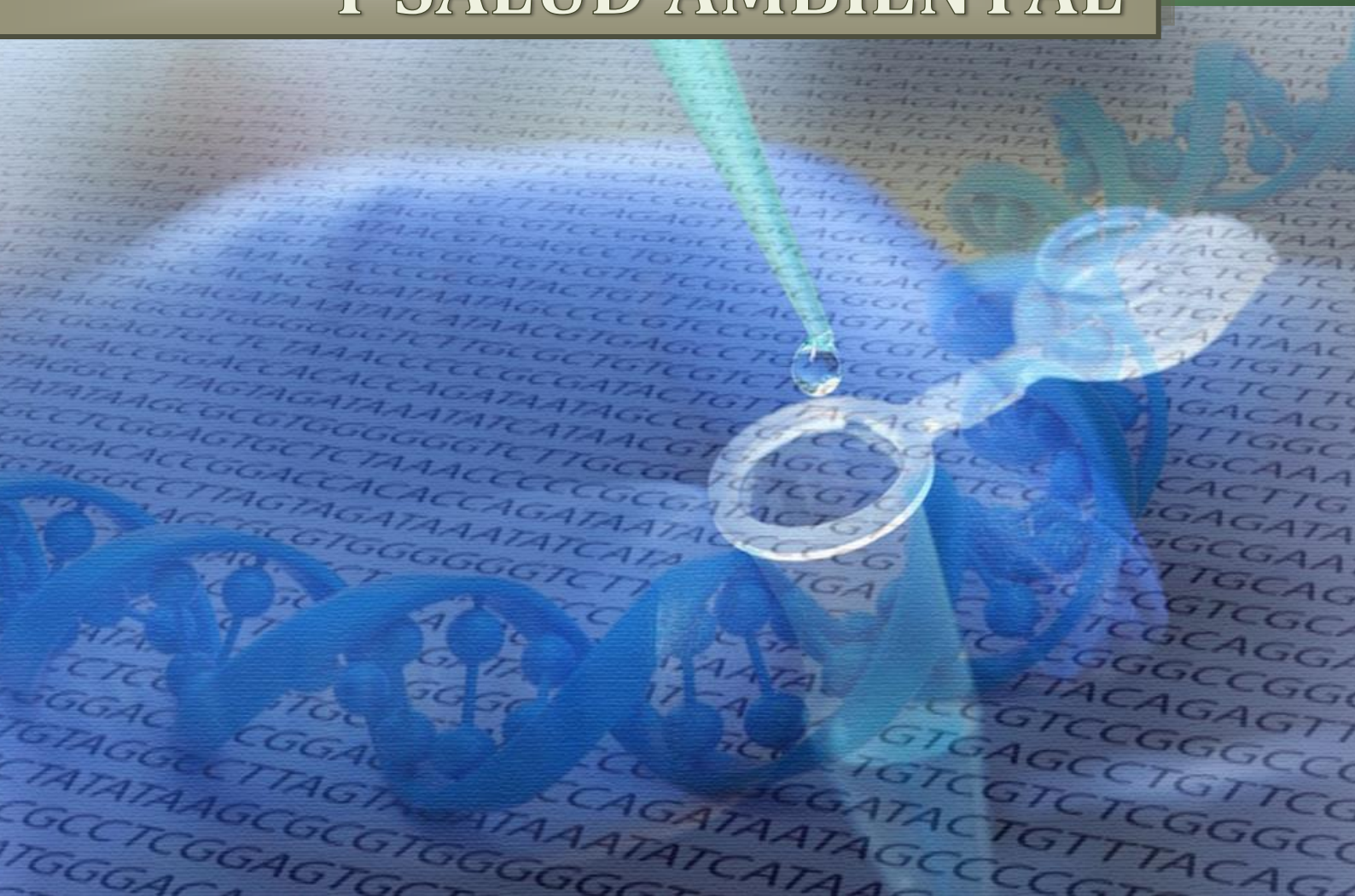


TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y SALUD AMBIENTAL



TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y SALUD AMBIENTAL

Documento de Divulgación Científica

DELIA AIASSA
BEATRIZ BOSCH
(Compiladoras)

Aiassa, Delia
Toxicología genética y salud ambiental / Delia Aiassa y Beatriz Bosch. - 1a ed.
Córdoba: CEPYD; Secretaría de Ciencia y Tecnología de la provincia de Córdoba, 2015.
40 p; 0x0 cm.

ISBN 978-987-29502-4-8

1. Salud Ambiental. I. Bosch, Beatriz II. Título
CDD 577

Fecha de catalogación: 31/03/2015

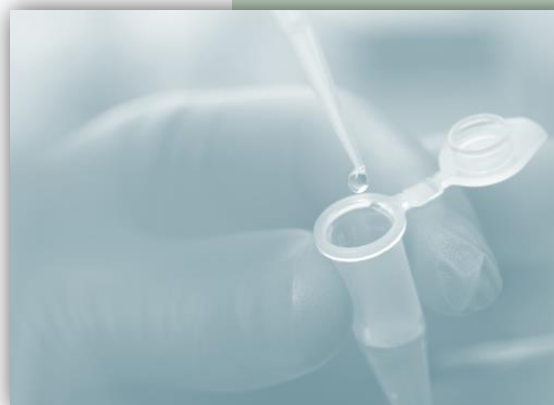
Diseño: Mariana Rudisi
Email: marianarudisi@hotmail.com

Córdoba, 2015
Copyright © 2014, Centro de Estudios de Población y Desarrollo
<http://www.cepyd.org.ar>
info@cepyd.org.ar

Queda hecho el depósito que marca la Ley 11.723
Impreso en Argentina – Printed in Argentina
Queda prohibida la reproducción total o parcial
del texto de la presente obra en cualquiera de sus
formas, electrónico o mecánica sin el consentimiento
previo y escrito de los autores.

INTRODUCCIÓN

Muchas son las disciplinas que están ligadas y realizan aportes desde sus saberes a la Salud Ambiental. La Toxicología Genética es una de ellas. Ya sea desarrollando, validando y poniendo en práctica ensayos apropiados para determinar riesgo genético en poblaciones humanas y de otras especies, desarrollando programas de monitoreo en poblaciones en riesgo ambiental, determinando la posible exposición a agentes genotóxicos, evaluando in vitro el potencial genotóxico de diversas sustancias o agentes de diversa naturaleza, desarrollando conocimiento relativo a cómo estos agentes pueden perturbar la integridad funcional y/o estructural del genoma entre otras actividades, esta ciencia tiene un papel fundamental. La Salud Ambiental se basa en esencia en dos aspectos: uno que evalúa los riesgos que presenta un determinado ambiente, sus efectos sobre la salud y las variaciones en la sensibilidad de los individuos frente a estas exposiciones ambientales, y otro que explora el desarrollo de medios para la protección frente a estos riesgos, en ambos aspectos están implicados los saberes de Toxicología Genética. La Toxicología Genética tiene un campo de acción amplio tanto para la investigación cuanto para sus aplicaciones en nuestro medio (conformando equipos multidisciplinarios), destinados a evitar o minimizar el riesgo genético y prevenir en general, los efectos nocivos de la exposición a xenobióticos. Su interrelación se pone de manifiesto al considerar cómo diversos agentes provenientes de la contaminación del aire, el suelo, el agua, de los hábitos del estilo de vida o de las diferentes actividades laborales, alteran actualmente la salud de las personas, perturbando en última instancia (y de diversas maneras) la transmisión de la información genética en las células somáticas de un organismo o de padres a hijos cuando se forman las gametas, y ocasionando así los más diversos problemas de salud. Este libro pretende poner a disposición de los lectores del área de la salud y demás interesados en esta problemática, los conceptos teóricos necesarios para comprender mecanismos básicos de toxicología, mutagénesis y genotoxicidad, su relación con trastornos de la reproducción, mecanismos de reparación del ADN, mecanismos epigenéticos y su relación con enfermedades como el cáncer, además de poner en su conocimiento los diferentes ensayos desarrollados para la evaluación genotóxica ambiental, monitoreo de poblaciones humanas expuestas y sus contribuciones a la Salud Ambiental.



Delia Aiassa y Beatriz Bosch

CAPÍTULO 1. TOXICOLOGÍA. METAS y ALCANCES

Dr. Fernando MAÑAS

Departamento de Clínica Animal

Facultad de Agronomía y Veterinaria

Universidad Nacional de Río Cuarto

La toxicología se ha definido como el estudio de los efectos adversos vinculados a la exposición a agentes físicos, químicos y biológicos; incluyendo la identificación de los mecanismos de acción responsables de tales efectos adversos, y la elaboración e interpretación de ensayos toxicológicos que permitan caracterizar las propiedades toxicológicas inherentes a un agente determinado. Entre sus diversos objetivos, se encuentran también los de establecer la magnitud del daño generado en función de la exposición de un organismo a un agente determinado, e identificar y prevenir patologías asociadas a agentes nocivos; así como desarrollar herramientas terapéuticas útiles para tratar dichas patologías.

Las contribuciones y actividades relacionadas a la toxicología como disciplina son muy amplias y sumamente diversas.

En este sentido, la toxicología contribuye a la fisiología y farmacología utilizando sustancias químicas para colaborar con el entendimiento de los fenómenos fisiológicos. Se encuentra implicada también en el reconocimiento, identificación y cuantificación de peligros relacionados a la exposición ocupacional a sustancias químicas; así como los efectos de contaminantes en

aire, agua y alimentos. Históricamente la toxicología, ha estado íntimamente relacionada al descubrimiento y desarrollo de nuevas drogas, aditivos alimentarios y medicamentos. También ha formado parte activa en el desarrollo de estándares y regulaciones diseñadas para proteger la salud humana y ambiental de los efectos adversos de las sustancias químicas.

La **toxicología ambiental** (una sub-disciplina relativamente nueva) incluye además, el estudio de los efectos de contaminantes ambientales sobre la flora y la fauna.

La **toxicología molecular**, por otro lado, se ocupa de investigar los mecanismos por los cuales los tóxicos modulan el crecimiento y la diferenciación celular, y como responden las células a la acción de una sustancia determinada a nivel de los genes.

“...la toxicología está presente en la clínica médica, abocada al desarrollo y la validación científica de antídotos y tratamientos destinados a disminuir la injuria generada por la exposición a agentes tóxicos”.

Finalmente, la toxicología está presente en la clínica médica, abocada al desarrollo y la validación científica de antídotos y tratamientos destinados a disminuir la injuria generada por la exposición a agentes tóxicos.

DEFINICIONES Y CONCEPTOS

Toxicidad: Es la capacidad intrínseca que posee un agente de producir efectos adversos en distintos niveles biológicos, incluyendo el molecular, el bioquímico y el celular.

Existen diversos tipos de toxicidad, que pueden ser clasificadas por ejemplo en relación al tiempo o evolución temporal de la intoxicación. De este modo, tendremos toxicidad aguda cuando el cuadro sintomático es de aparición inmediata con respecto a la exposición, y de rápida evolución; por lo general en un lapso de alrededor de 24 horas tras una única exposición.

Por otro lado, se entiende que la toxicidad es crónica cuando es generada por cantidades por sí mismas insuficientes para hacer patentes efectos adversos en forma inmediata, pero que por acumulación de pequeños efectos durante períodos prolongados o por acumulación del producto químico en el organismo, terminan desencadenando un cuadro de intoxicación. Este tipo de intoxicaciones son más difíciles de diagnosticar que las agudas, ya que los síntomas pueden muchas veces observarse en períodos tardíos de la vida de los individuos, e incluso en la descendencia de los sujetos afectados. Entre la toxicidad aguda y la

crónica encontramos otras categorías, como la toxicidad sub-aguda (cuando la exposición es de alrededor de unos 14 días) o la toxicidad sub-crónica (cuando la exposición es superior a los 14 e inferior a los 90 días).

Xenobiótico: Son sustancias extrañas al organismo, de origen exógeno, entre las que podemos incluir a los fármacos, contaminantes ambientales, venenos presentes en la naturaleza, y sustancias químicas en general sintetizadas por el hombre.

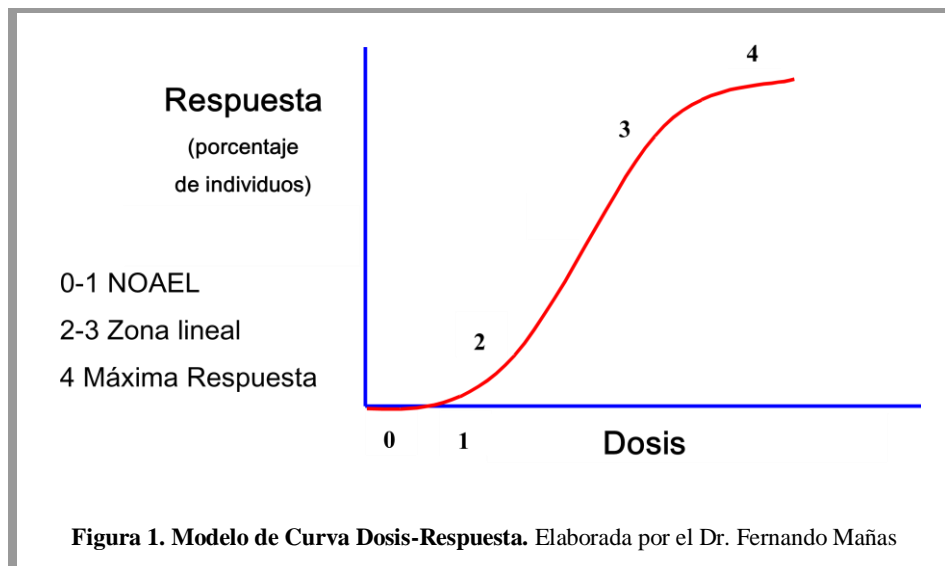
Toxinas: Son sustancias tóxicas de origen natural, elaboradas por seres vivos como bacterias, algunos artrópodos, serpientes, y diversas especies vegetales.

Dos conceptos de suma importancia en toxicología son los de dosis-efecto y dosis-respuesta. Ambos conceptos permiten establecer una relación causal entre la exposición a un agente determinado y los efectos producidos por dicha exposición. La relación dosis-efecto hace referencia a la relación existente entre la dosis y el efecto producido a nivel individual. Si existe una relación de este tipo, conforme se incrementa la dosis aumenta la intensidad o gravedad de los efectos producidos.

La curva dosis efecto puede obtenerse para los efectos producidos en una molécula, una célula o en todo el organismo. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que existen determinados efectos, como la muerte o el desarrollo de neoplasias, para los cuáles no hay un efecto gradual, sino que son efectos del “todo o nada”.

Por otro lado, la relación dosis-respuesta es un indicador de tipo poblacional, que hace referencia al porcentaje de individuos

que presentan un efecto a una dosis determinada. Esta relación implica que a mayor dosis de exposición existirá una mayor cantidad de individuos sobre los que podrá observarse un efecto tóxico determinado. Cuando se grafica esta relación, en general se obtiene una curva sigmoidea, como puede observarse en la **Figura 1**.



En esta curva dosis-respuesta pueden observarse claramente tres zonas bien definidas. Entre los puntos 0 y 1, se delimita una zona en la que no hay respuesta en la población de animales frente a la exposición al agente tóxico. Esta zona se corresponde con el **NOAEL** (nivel sin efectos adversos observables), que es el valor de dosis más elevada frente a la cual no hay aparición de efectos tóxicos observables en una población de animales. Este valor se emplea entre otras cosas, para calcular la Ingesta Diaria Admisible de una sustancia química determinada, es decir la cantidad que los seres humanos podemos consumir diariamente de esa sustancia sin que aparezcan efectos tóxicos. Entre los puntos 2 y 3 podemos observar que la gráfica toma la forma aproximada de una recta. Analizar

la pendiente de esta recta brinda información importante respecto al comportamiento de una sustancia química en particular, puesto que cuanto más elevada sea la pendiente, implica que esa sustancia química tendrá un comportamiento más peligroso.

Esto quiere decir que una sustancia química con una pendiente muy elevada en su relación dosis respuesta presentará variaciones muy marcadas en sus efectos frente a pequeños cambios en las dosis administradas. Por el contrario, aquellas sustancias que presente pendientes bajas, podrán ser consideradas menos peligrosas por cuanto serán necesarias variaciones mayores en las dosis administradas para generar cambios en los efectos observados.

Finalmente, al llegar al punto 4, la curva tiende a aplanarse cuando llega a valores cercanos al 100%, en los que prácticamente la totalidad de los animales presenta los efectos tóxicos analizados.

Si se graficara una curva dosis respuesta con el porcentaje de individuos que mueren en relación a la dosis de un agente tó-

xico determinado, podríamos calcular la dosis necesaria para matar al 50% de la población de animales de experimentación; es decir la Dosis Letal 50 o DL50. Por definición entonces, la DL50 es la dosis que produce una mortalidad del 50 % en una población de animales de experimentación. La DL50 puede considerarse como una medida de la toxicidad aguda de un agente tóxico. A mayor DL50, menor toxicidad aguda. De una sustancia química con una gran toxicidad aguda (con una DL50 baja) se dice que es potente.

En la **Figura 2** se grafican dos curvas de DL50 para dos compuestos diferentes, A y B. Como puede observarse, la **sustancia B** tiene mayor toxicidad aguda (es más potente) que la **sustancia A**, puesto que su DL50 es menor. Sin embargo, es sumamente importante resaltar que no hay una correlación necesaria entre la toxicidad aguda y la toxicidad crónica de una sustancia química. Es posible que una sustancia tenga una baja toxicidad aguda, y sin

embargo, su toxicidad sea de otra naturaleza. En este sentido, es factible por ejemplo que la sustancia A, a pesar de tener una menor toxicidad aguda que la B, sea cancerígena.

Se dijo previamente que la toxicidad podía ser clasificada de acuerdo a su evolución en el tiempo incluyendo categorías como toxicidad aguda, sub-aguda, sub-crónica y crónica. Otro modo de clasificarla, es de acuerdo al lugar de acción. De este modo, podemos incluir en la clasificación otras dos categorías como toxicidad local, o “por contacto” y toxicidad sistémica o “a distancia”. La **toxicidad local** es aquella en la que el agente genera un efecto directo en la piel o las mucosas. En general, este tipo de toxicidad es provocada por agentes muy agresivos (ácidos, álcalis, etc.) capaces de producir conjuntivitis, dermatitis, quemaduras químicas, además de reacciones alérgicas e incluso cáncer. Por otro lado, la **toxicidad sistémica** es aquella en la que el daño se genera distante e indepen-

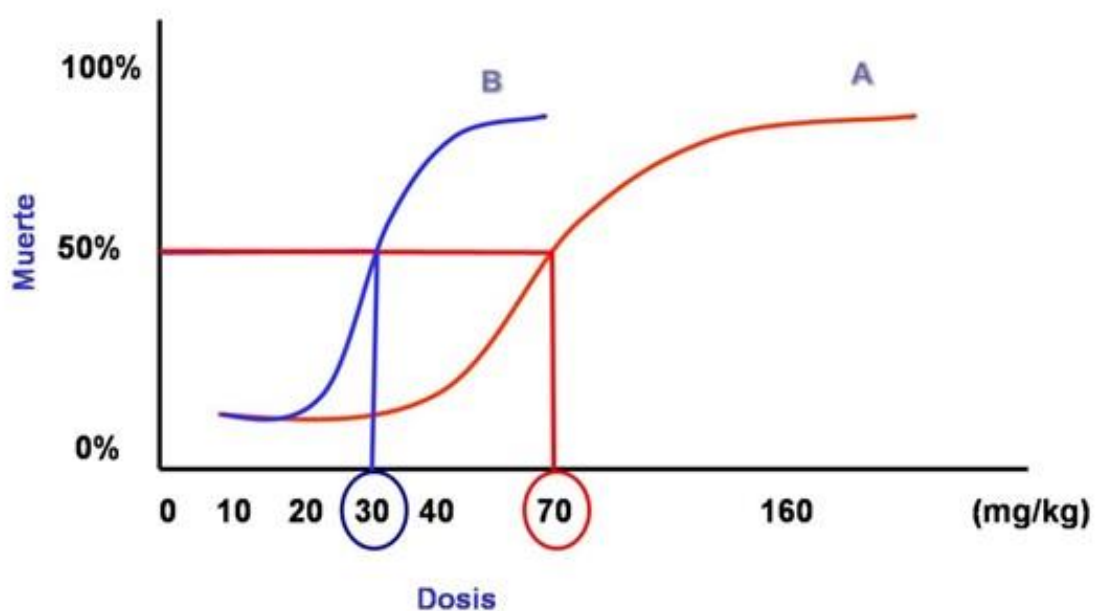


Figura 2. Comparación de Curvas de DL50. Elaborada por Dr. el Fernando Mañas

diente del lugar por donde ingresa el tóxico al organismo. Este tipo de toxicidad va a depender en cierta medida del comportamiento que tenga la sustancia en el organismo, algo que como veremos a continuación se ocupa de estudiar la toxicocinética.

MECANISMOS DE TOXICIDAD

Una de las principales razones por las que es importante determinar los mecanismos de acción toxicológica de una sustancia química es poder establecer la base de la terapia para el tratamiento de la intoxicación, y generar información que le permita a la industria farmacéutica elaborar nuevos principios activos. Del mismo modo, la información mecanicista ayuda a los organismos regulatorios a establecer límites de seguridad con el fin de evitar niveles de exposición peligrosos para el ser humano y el ambiente. Contribuye también a definir los equipos de protección necesarios para manipular sustancias químicas, así como recomendar líneas de acción para limpiar lugares contaminados.

Muchas veces, el conocimiento de los mecanismos de acción permite a la Toxicología Forense explicar la forma en la que un agente determinado provoca la muerte. En líneas generales, los agentes tóxicos pueden producir sus efectos deletéreos por medio de diversos mecanismos de acción, incluyendo acciones físicas como las producidas por álcalis o ácidos fuertes; acción sobre estructuras receptoriales como enzimas, como el efecto provocado por insecticidas organofosforados (bloqueando ace-

tilcolinesterasa); acción sobre macromoléculas como el generado por aquellos compuestos que actúan como radicales libres o los generan en el organismo o por sustancias genotóxicas que afectan el ADN; o sustancias químicas que actúan directamente sobre receptores propiamente dichos, modificando por ejemplo la funcionalidad del SNC (benzodiazepinas sobre receptores GABA).

TOXICOCINÉTICA

La toxicocinética es la rama de la toxicología que estudia el tránsito intraorgánico de las sustancias químicas, y las leyes que lo rigen.

La toxicocinética estudia cuatro procesos fundamentales (ADME):

- ✓ *Absorción*
- ✓ *Distribución*
- ✓ *Metabolismo*
- ✓ *Eliminación*

Absorción: Este proceso implica el paso de una sustancia química desde el sitio de exposición del organismo (piel, mucosas en general, aparato respiratorio, sistema digestivo, etc.) al sistema circulatorio. La absorción de sustancias químicas va en-

tonces a variar en gran medida de acuerdo a la vía de exposición.

Absorción por vía respiratoria: En los seres humanos, los alveolos poseen una extensa superficie (alrededor de 100 m²). Por ello, la absorción en los pulmones es la principal vía de entrada de numerosos tóxicos que están en suspensión en el aire (gases, vapores, humos, nieblas, polvos, aerosoles, etc.). Además, la barrera de difusión es sumamente pequeña, sólo dos delgadas capas de células y una distancia de micras entre el aire alveolar y la circulación sanguínea sistémica. Ello hace que los pulmones sean un órgano muy eficiente para el intercambio no sólo de oxígeno y dióxido de carbono, sino también de otros gases y vapores.

La velocidad de absorción de un compuesto depende en gran medida del flujo sanguíneo (ventilación pulmonar, gasto cardíaco) y de la liposolubilidad de la sustancia en cuestión.

Absorción digestiva: La principal función del tracto digestivo es permitir una eficiente absorción de los nutrientes contenidos en los alimentos y las bebidas consumidas, pero también es una excelente vía de absorción de fármacos y tóxicos.

La absorción en el tubo digestivo ocurre en su mayoría por difusión simple, para tóxicos liposolubles-no ionizados. El pH, por lo tanto tendrá una enorme importancia en determinar la velocidad de absorción de estas sustancias químicas.

Absorción percutánea: A diferencia de los tractos respiratorio y digestivo, la piel es una barrera muy eficiente. Aparte de su función termorreguladora, protege al organismo de los microorganismos, la radiación ultravioleta y otros agentes nocivos, y también de la pérdida de agua excesiva.

La función de barrera de la piel es sumamente eficiente, en gran parte debido a la capa de queratina, que opone mucha resistencia a la difusión de la mayoría de las sustancias.

Sin embargo, existen una cantidad importante de compuestos lo suficientemente liposolubles como para atravesar la piel y llegar a los vasos sanguíneos de la dermis; como por ejemplo los insecticidas organofosforados o algunos organoclorados.

Otras vías de absorción: En toxicología experimental, con cierta frecuencia suelen emplearse otras vías de exposición / administración, fundamentalmente inyectables, incluyendo la vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal e intravenosa. Salvo en esta última en la que se considera que no existe absorción, puesto que todo el tóxico es directamente depositado en el torrente circulatorio, la absorción por el resto de las vías mencionadas es variable, y depende en gran medida de la irrigación sanguínea local y de las características físico-químicas del compuesto administrado; aunque en líneas generales se acepta que la absorción por estas vías es mayor que para las vías transdérmica, digestiva y en algunos casos también respiratoria.

Distribución: La distribución de una sustancia dentro del organismo es un proceso dinámico que depende de las características físico-químicas del compuesto, así como del flujo sanguíneo en los diferentes tejidos y de las afinidades de éstos por la sustancia.

Las sustancias químicas dejan la sangre durante la fase de distribución, ingresando al espacio extracelular, e incluso al interior de las células. Los químicos disueltos en el plasma pueden abandonar los vasos sanguíneos atravesando los poros de los capilares fenestrados o directamente las membranas celulares mediante difusión pasiva. Algunas sustancias químicas abandonan rápidamente los vasos sanguíneos y se distribuyen por tanto en todo el organismo; mientras que otras tienen mayores dificultades en llegar a los tejidos, y tienen por lo tanto, una distribución más limitada. Del mismo modo, algunos tóxicos se acumulan selectivamente en ciertas partes del cuerpo como resultado de su unión a proteínas, transporte activo, o elevada solubilidad en tejido adiposo. La toxicidad en órganos o tejidos diana puede ser consecuencia de esta acumulación, aunque no siempre es el caso.

Si bien, como dijimos, la distribución de una sustancia por el organismo depende fundamentalmente de sus características físico-químicas (peso molecular, lipo o hidrosolubilidad y grado de ionización), de la afinidad de esta sustancia por los tejidos, así como del flujo sanguíneo que estos re-

ciben; existen determinados órganos que se encuentran protegidos por barreras tisulares especiales. De este modo, los vasos sanguíneos del cerebro, los testículos y la placenta tienen características anatómicas especiales que inhiben el paso de las moléculas grandes, como las proteínas.

Estas barreras, que suelen denominarse barreras hematoencefálica, hematotesticular y hemato-placentaria, pueden impedir el paso de moléculas de gran tamaño o altamente hidrosolubles; aunque no son eficaces evitando el paso de aquellos xenobióticos capaces de atravesar las membranas lipídicas por difusión pasiva.

Metabolización: En líneas generales se considera que el proceso de metabolización tiene como finalidad la transformación de las sustancias químicas en compuestos de mayor tamaño y más hidrosolubles, con la finalidad de favorecer una rápida eliminación del organismo. Si bien existen enzimas capaces de transformar sustancias químicas en tejidos como pulmón y riñón, el proceso de metabolización se lleva a cabo fundamentalmente en el hígado, generalmente en dos fases bien definidas.

* Reacciones de Fase 1: Esta fase consiste en procesos de oxidación, reducción e hidrólisis, que tienen como finalidad incrementar la hidrosolubilidad del compuesto parental. En esta fase intervienen en gran medida las enzimas del citocromo P450.

* Reacciones de Fase 2: Esta segunda fase consiste en que el compuesto proveniente de la fase anterior es conjugado con una molécula endógena con la finalidad de incrementar aún más su hidrosolubilidad y fundamentalmente su peso molecular.

Las moléculas que intervienen en esta fase de síntesis son el ácido glucurónico, el glutatión, algunos aminoácidos o sulfatos.

Es necesario aclarar que esta clasificación arbitraria de las fases del metabolismo hepático no implica necesariamente un orden cronológico en el que deben ocurrir las reacciones. Aunque la conjugación de muchos xenobióticos ocurre luego de reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis, existen muchos ejemplos en el que las moléculas sufren oxidación tras haber sido conjugadas.

Por ejemplo, gemfibrozil (un regulador de lípidos plasmáticos), es conjugado con ácido glucurónico antes de sufrir oxidación por el citocromo P450. Del mismo modo, existen moléculas, como el acetaminofén (paracetamol), que son directamente conjugadas con ácido glucurónico o, en menor medida, ácido sulfónico sin haber sufrido procesos enzimáticos propios de la Fase 1.

Si bien en líneas generales, los mecanismos de detoxificación son útiles para proteger al organismo de la injuria generada por la exposición a diversas sustancias químicas, existen casos en los que las enzimas responsables de la biotransforma-

ción pueden convertir ciertos xenobióticos en metabolitos reactivos que pueden resultar aún más tóxicos que el compuesto original. Las enzimas del citocromo P450, por ejemplo, son particularmente efectivas en transformar pro-cancerígenos en cancerígenos, generando metabolitos electrofílicos que se unen y dañan al ADN, llevando por tanto a mutaciones que pueden originar una célula neoplásica.

Del mismo modo, la metabolización de ciertos xenobióticos resulta en la generación de especies reactivas del oxígeno que pueden causar toxicidad celular (incluyendo daño genético) mediante el estrés oxidativo y la lipoperoxidación.

En la actualidad se sabe que cada individuo posee su propia dotación de enzimas metabolizantes de xenobióticos, lo que deter-

mina en última instancia el destino y el potencial de toxicidad de un compuesto químico en cada organismo. Estas diferencias interindividuales en la capacidad metabólica, se estudian en la actualidad intensamente, y se conocen como polimorfismos genéticos. Estos polimorfismos genéticos pueden dar lugar a 4 fenotipos fácilmente identificables: Metabolizadores Lentos; Metabolizadores Intermedios; Metabolizadores Rápidos y Metabolizadores Ultrarápidos. Estas diferencias en la capacidad de biotransformar xenobióticos pueden tener un impacto en la incidencia ciertas enfermedades. Por ejemplo, polimorfismos en

En la actualidad se sabe que cada individuo posee su propia dotación de enzimas metabolizantes de xenobióticos, lo que determina en última instancia el destino y el potencial de toxicidad de un compuesto químico en cada organismo.

la CYP2A6 (una enzima del citocromo P450) impactan en la incidencia de cáncer de pulmón en individuos fumadores. Personas con ausencia relativa de la CYP2A6 son metabolizadores lentos de nicotina y son lentos activadores de mutágenos propios del tabaco, por lo que forman menos metabolitos reactivos y pro-cancerígenos que aquellos con un polimorfismo que implica una gran actividad de la CYP2A6.

Eliminación: Las sustancias tóxicas son eliminadas del organismo por diversas vías. Probablemente la más importante de ellas es la vía

urinaria, por lo que la mayoría de las sustancias químicas son eliminadas principalmente por esta vía, más que por cualquier otra. En este caso, los compuestos

químicos son excretados del organismo por el mismo mecanismo que emplea el riñón para remover los productos de desecho, incluyendo filtración glomerular y excreción tubular.

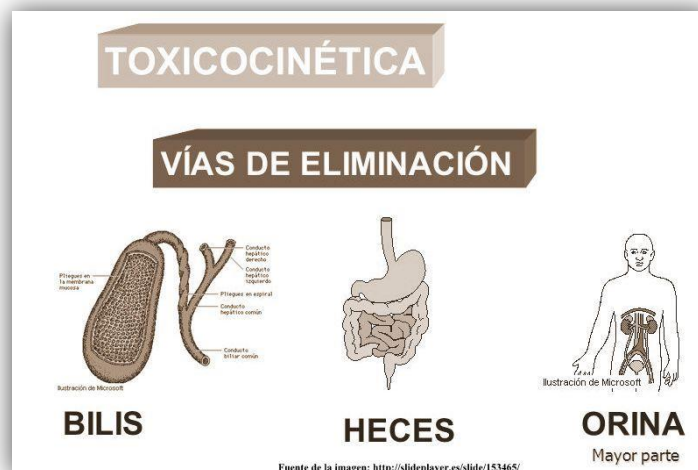
Los capilares glomerulares tienen poros (de aproximadamente 70 nm) que filtran compuestos con un peso molecular superior a los 60 kDa (más pequeños que la albúmina). Por este motivo, el grado de unión a proteínas plasmáticas afecta directamente la tasa de filtración glomerular de un compuesto determinado. Una vez filtrado, un tóxico puede directamente ser eli-

minado con la orina, o dependiendo de las características físico-químicas del mismo, puede también ser reabsorbido a la circulación sistémica a través de los capilares peritubulares. Los compuestos más liposolubles serán los que tengan mayores probabilidades de ser reabsorbidos, mientras que aquellos compuestos más polares lo serán en menor proporción. Otro factor que puede influir en este proceso, es el pKa de la molécula en relación al pH del medio, en este caso, la de la orina. La orina humana tiene un pH variable, pero que en condi-

ciones normales es ligeramente ácida, entre 6 y 6,5. Por lo tanto, aquellas moléculas de carácter ácido que lleguen a la orina se encontrarán en menor proporción ionizadas y tendrán

mayores probabilidades de ser reabsorbidas hacia la circulación (eliminarse entonces más lentamente); mientras que aquellas moléculas alcalinas que alcancen el filtrado glomerular se encontrarán en mayor proporción ionizadas, y por lo tanto se eliminarán más rápidamente (se reabsorberán en menor proporción).

A modo de ejemplo, podríamos emplear la intoxicación con fenobarbital (una molécula ácida), que sería más fácilmente eliminada del organismo si alcalinizamos la orina con bicarbonato de sodio. Del mismo modo, el tratamiento de la intoxicación



con alcaloides vegetales (presentes en ciertas plantas tóxicas), podría incluir la administración de ácido ascórbico (Vitamina C) con el fin de acidificar la orina e incrementar por lo tanto la eliminación de los compuestos tóxicos.

La segunda vía de eliminación en orden de importancia es la digestiva, (a través de la materia fecal) en la mayoría de los casos llegando las sustancias químicas al intestino a través de la bilis; y otras de menor importancia son la pulmonar (con el aire exhalado), la glándula mamaria, las lágrimas o el sudor.

TIPOS DE TOXICIDAD

La disposición de los tóxicos en el organismo (es decir, la toxicocinética), va a determinar junto a otros factores propios del xenobiótico, que existan órganos o tejidos diana, en los que el agente tóxico va a generar predominantemente su acción deletérea. En este sentido, vamos a poder encontrar respuestas tóxicas en la sangre como la generada por el antimicrobiano Cloranfenicol, que en algunos casos provoca un cuadro de anemia aplásica irreversible. Otras sustancias pueden afectar al sistema inmunológico, como los hidrocarburos aromáticos halogenados (entre los que se encuentran los PCB), provocando atrofia del timo, pancitopenia y promoción tumoral. Existen una gran cantidad de sustancias que tienen como órgano diana para sus efectos tóxicos al hígado, entre las que encontramos algunas como el alcohol, el

tetracloruro de carbono, el paracetamol, o la vitamina A entre otros.

Del mismo modo, existen una gran cantidad de sustancias nefrotóxicas, como los antimicrobianos aminoglucósidos, algunas micotoxinas (como la aflatoxina B1), los antiinflamatorios no esteroideos, y anti-neoplásicos como el cisplatino entre otros. Otros ejemplos de toxicidad sobre órgano o tejido diana incluyen asbestos, que afectan el sistema respiratorio (fundamentalmente los pulmones); o el plomo que afecta el sistema nervioso central.

Así como existen intoxicaciones con órganos o tejidos diana, como las mencionadas previamente, existen casos en los que la toxicidad no es dirigida a ningún órgano o tejido, como la carcinogénesis química, la toxicidad del desarrollo y la genotoxicidad. Los **carcinógenos químicos** incluyen aquellos que actúan afectando la integridad o el funcionamiento del material genético y aquellos que actúan por mecanismos epigenéticos, como los que actúan provocando citotoxicidad, o por mecanismos hormonales entre otros.

La **toxicidad del desarrollo** es la generada por agentes tóxicos que afectan el desarrollo de los organismos (incluidas anomalías estructurales, alteración del crecimiento, deficiencias funcionales o muerte) como consecuencia de la exposición antes de la concepción (en cualquiera de los padres) o durante los periodos prenatal y posnatal hasta la madurez sexual. Entre los efectos incluidos en este tipo de toxicidad encontramos la teratogénesis, es decir aquellas alteraciones congénitas que se traducen en malformaciones anatómicas

macroscópicas, como las que produjo la Talidomida administrada a miles de mujeres embarazadas durante la década de los 60 en Europa.

Finalmente, la **genotoxicidad o toxicidad genética** es el efecto deletéreo generado por la exposición a un agente capaz de interactuar con el ADN u otros blancos celu-

lares que controlan la integridad y el funcionamiento del material hereditario. Este tipo de toxicidad, sus causas y consecuencias, así como los métodos empleados para evaluarla, serán abordados en detalle en los capítulos siguientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Becker, R. A., S. M. Hays, S Robison y L. L. Aylward. 2012. Development of screening tools for the interpretation of chemical biomonitoring data. *Journal of Toxicology*. 82:1-10.
2. Casarett y Doull's. 2008. *Toxicology. The basic science of poisons*. Séptima Edición. MacMillan Publishing Company. New York.
3. Duffus, J. y H. Worth. 1996. *Fundamental toxicology for chemists*. Editorial Royal Society of Chemistry
4. Furge, L. L. y F. P Guengerich. 2006. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism and chemical toxicology: An introduction. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 34, 66-74.
5. Galli, C. L., B. Viviani y M. Marinovich. 1993. Cell cultures: A tool for the study of mechanisms of toxicity. *Toxicology in vitro*. 7(5): 559-568.
6. Govantes, J., P. Lorenzo y C. Govantes. 1999. *Manual Normon*. Laboratorios Norman, SA, 1048. Madrid, España.
7. Jiménez, M. R. y G. R. Kuhn. 2009. *Toxicología Fundamental*. Cuarta Edición. Ediciones Días de Santos. Barcelona, España.
8. Moraes Moreau, R. L. de 2007. Principles of toxicology. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 43:662-672.
9. Silbergeld, E. K., B. Holmberg, J. Högberg, B. F. Trump y R. R. Misra. 1998. *Enciclopedia de salud y seguridad del trabajo*. Ediciones Chantal Dufresne, BA. Organización Internacional de Trabajo. Madrid, España.

ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

Lic. Natalí BERNARDI

Departamento de Ciencias Naturales

Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales

Universidad Nacional de Río Cuarto

Uno de los aspectos en el que se hará énfasis en este libro, es la toxicidad que afecta la integridad del material genético. Es por esto que para comenzar, se describe su estructura y función en la vida de la célula.

ADN es la sigla utilizada para designar un ácido nucleico, el ácido desoxirribonucleico. El ADN es una molécula de gran tamaño que está presente en las células de todos los organismos vivos (y en algunos virus) y contiene la información necesaria para su desarrollo y funcionamiento. Además es la molécula responsable de la herencia biológica de los organismos, esta información se trasmite de las células madres a las células hijas y de padres a hijos. El contenido de ADN de una célula de un organismo es su genoma.

Las unidades estructurales básicas del ADN son los **nucleótidos**, que están formados por una molécula de azúcar (la desoxirribosa), un grupo fosfato, y una base nitrogenada. Existen cuatro bases nitrogenadas distintas, que darán lugar a cuatro nucleótidos diferentes: adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G). Como se ilustra en la figura 1, estos nucleótidos se encadenan uno con otro mediante la unión

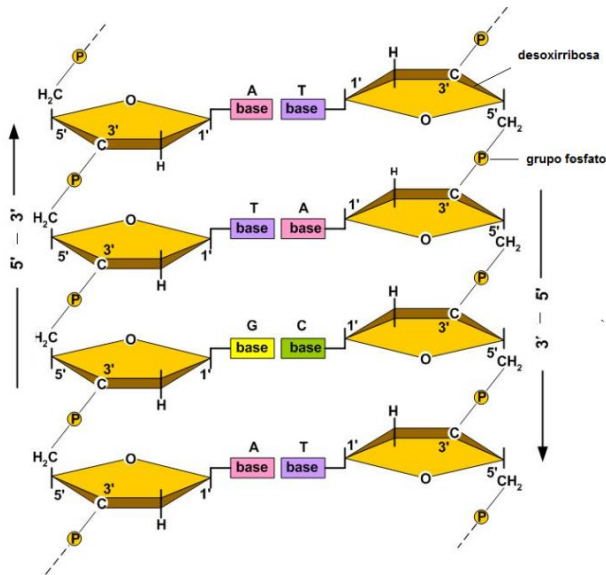
del azúcar de uno de ellos con el azúcar del contiguo a través del grupo fosfato, formando cadenas con determinadas secuencias de nucleótidos.

El ADN presenta una estructura tridimensional en la que dos cadenas o hebras forman lo que se conoce como “doble hélice”. Estas hebras se unen entre sí por las bases nitrogenadas mediante uniones químicas intermoleculares llamadas puente hidrógeno. Las hebras son complementarias entre sí ya que, la adenina de una cadena siempre se une a la timina de la otra, mientras que la guanina lo hace con la citosina y viceversa. Los azúcares y los grupos fosfato conforman el “esqueleto” de la molécula; y las bases nitrogenadas constituyen su parte variable. Las cadenas que conforman la doble hélice tienen dirección: cada grupo fosfato está unido a un azúcar en el carbono que se encuentra en la posición 5 (posición 5') y al azúcar siguiente en la posición 3' —al carbono que se encuentra en la posición 3. Así, la cadena tiene un extremo 5' y un extremo 3'. Las dos hebras que constituyen la estructura tridimensional del ADN, “corren” en direcciones opuestas, es decir, mientras que una tiene

una dirección 3'→5' la otra cadena, la complementaria, tiene una dirección 5'→3' por ello se dice que las hebras son antiparalelas.

En la secuencia de estas bases nitrogenadas está contenida la información genética del organismo (Figura 1).

Fig. 1: Representación esquemática de la doble



hélice de ADN. Modificado de:

<http://faculty.washington.edu/trawets/vc/theory/dna/index.html>

ARN es la sigla utilizada para designar otro ácido nucleico, el ácido ribonucleico. Es una molécula de cadena sencilla, similar al ADN pero de cadena más corta. Los nucleótidos del ARN se componen de un azúcar (ribosa), un grupo fosfato y una base nitrogenada: adenina (A), guanina (G), citosina (C), y, a diferencia del ADN, uracilo (U) en lugar de timina (T).

El “esqueleto” del ARN está constituido, como en el ADN, por las moléculas de azúcar y por las moléculas de fosfato. La secuencia de bases del ARN es complementaria con alguna determinada secuencia de bases de ADN (la complementariedad es A-U y C-G). Existen diversos tipos

de ARN, que intervienen en distintas etapas de la síntesis de proteínas así como ARNs que están involucrados en la regulación de la expresión de los genes.

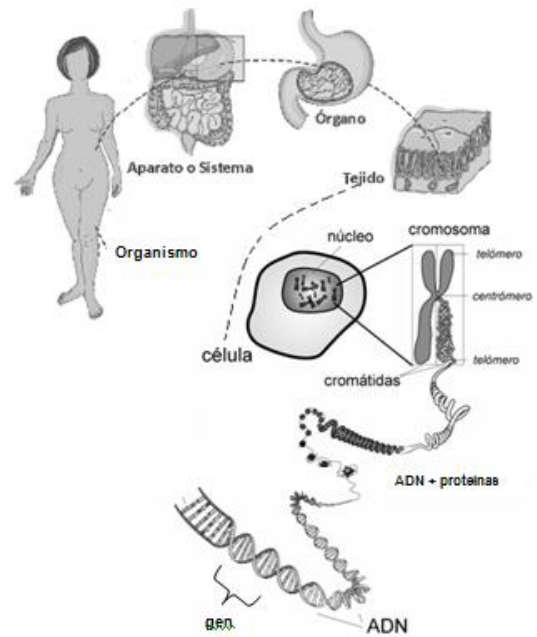


Figura 2. Tomado de Aiassa, Bosch y Bevilacqua, 2010

En las células eucariotas (eu: verdadero; carion: núcleo) el ADN se encuentra en el núcleo unido a proteínas (histonas y no histonas). Durante el ciclo de vida de la célula (ciclo celular) el ADN se encuentra en distintos niveles de compactación (Fig. 2). En el período entre una división celular y otra (interfase) el ADN se encuentra con el nivel mínimo de compactación formando una estructura laxa, que se conoce como cromatina.

Sin embargo, cuando la célula se prepara para dividirse, la cromatina se compacta, haciéndose visible al microscopio óptico y constituyendo los cromosomas (el nivel máximo de compactación).

CROMOSOMAS

En los organismos diploides (genoma celular formado por dos juegos de cromosomas), los cromosomas se encuentran de a pares y en números variables según la especie (en la especie humana: 23 pares, $2n=46$). Cada uno de los cromosomas del par se hereda de un progenitor. Pero, aún en organismos diploides, existe un tipo celular en el que los cromosomas no se encuentran de a pares: las gametas o células sexuales. Es a través de estas células que la información hereditaria o genética, se transmite de una generación a la siguiente en los organismos de reproducción sexual. La estructura básica de un cromosoma puede verse en la figura 3.

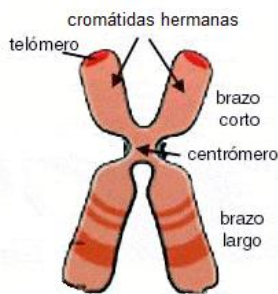


Fig. 3: Representación de la morfología básica de un cromosoma.

De acuerdo con la posición del centrómero pueden clasificarse en metacéntricos, submetacéntricos, acrocéntricos y telocéntricos. El centrómero está constituido por heterocromatina, se trata de proteínas y ADN formado por secuencias altamente repetidas, que rara vez se transcribe, es decir, secuencias que no codifican para proteínas. Los extremos de cada cromátida se denominan telómeros y están constituidos también por ADN no codificante cuya función

principal es la de estabilizar la estructura de los cromosomas. Cuando la célula está en división, los cromosomas están constituidos por dos cromátidas (cromátidas hermanas) unidas por el centrómero.

Como se dijo, el genoma humano está constituido por 23 pares de cromosomas. 22 pares de cromosomas denominados autosómicos y un par de cromosomas que determinan el sexo del individuo llamados (cromosomas sexuales). El sexo femenino está determinado por la presencia de dos cromosomas X (XX) y el sexo masculino por un cromosoma X y otro Y (XY).

A lo largo de las cromátidas se disponen los genes. Un gen se define como la unidad de almacenamiento de información genética y unidad de la herencia, porque transmite esa información a la descendencia.

CICLO CELULAR Y DIVISIÓN

En la mayoría de las células ocurre una sucesión de fases de crecimiento y división que es el ciclo celular. Así, una célula transita a lo largo de su vida (desde que se origina de una célula preexistente hasta que se divide originando otras nuevas) por diferentes etapas que se alternan cíclicamente, conformando dicho ciclo; éstas son: interfase, fase M o división celular (mitosis o meiosis) y citocinesis. Es decir, en términos generales, durante estas etapas se replicará el genoma, se distribuirá equitativamente el contenido celular y se separarán (segregarán) los cromosomas de forma equitativa en cada célula hija.

La interfase es el período de tiempo que transcurre entre dos divisiones celulares y comprende los períodos G1, S, y G2.

* **Fase G1:** Es la primera etapa de crecimiento y la más variable en duración.

Todos los procesos de síntesis de nuevas organelas o aumento de tamaño de las existentes, son regulados mediante activación de complejos enzimáticos en un momento determinado.

Durante este período también se sintetizan las enzimas que serán utilizadas en la etapa siguiente, es decir en la duplicación del ADN, como así también moléculas precursoras de los ácidos nucleicos.

* **Fase S:** Durante esta fase ocurre la síntesis de material genético, el ADN se replica. La replicación es el mecanismo a través del cual el ADN se duplica (sintetiza una copia idéntica). De esta manera de una molécula de ADN, se obtienen dos copias. Cada hebra de la molécula de ADN es usada como molde para la síntesis de una nueva cadena, que queda unida a la original usada como molde. Por esta razón la replicación del ADN se denomina semi-conservativa.

* **Fase G2:** Es el tiempo que transcurre entre la duplicación del ADN y el inicio de la división. El ADN recién duplicado comienza a compactarse. Esto permite los movimientos complejos y la separación del material genético que ocurrirá en la división.

* **Fase M:** Durante esta etapa, la envoltura nuclear se desintegra, el ADN alcanza el nivel máximo de compactación. Se separan los dos juegos de cromosomas y el citoplasma se divide.

La duración del ciclo, así como sus características, varía entre los distintos tipos celulares. Un ciclo puede completarse en pocas horas o requerir varios días, dicha duración depende de factores exógenos o endógenos tales como la temperatura, el pH o los nutrientes disponibles y del tipo de célula. Por ejemplo, los glóbulos rojos se originan a partir de células madre de la médula ósea y tienen una vida muy corta, de no más de 120 días, por lo tanto, dichas células producen por división celular, alrededor de 2.5 millones de nuevas células cada segundo.

Los tejidos epiteliales superficiales son otro ejemplo, cuentan con células en división continua a lo largo de toda su vida sustituyendo a las células que mueren.

Existe un grupo particular de células que se encuentran en fase G0, son las llamadas células quiescentes o estables. En esta fase las células no están en división, por lo que se encuentran fuera del ciclo celular aunque su metabolismo se encuentra activo.

En un organismo multicelular, la división celular está regulada y las células responden, no sólo a estímulos externos sino también a mecanismos internos de regulación. Ciertas condiciones externas como la

Durante la interfase se produce la duplicación de todos los componentes fundamentales de la célula, es decir ADN, ARN y proteínas, síntesis de lípidos, enzimas y membranas que se requieren para la división.

falta de nutrientes, cambios de temperatura o de pH y la presencia de células contiguas, puede detener el crecimiento y la división celular. Ciertas hormonas y factores de crecimiento pueden estimular la división celular. Si se priva a las células de tales señales, el ciclo celular se detiene en un punto de control G1 y las células entran en el estado G0. Pueden permanecer en G0 por días, semanas, o incluso años antes que se reanude el ciclo celular. Una vez que recibe nuevamente señales, sobre todo extracelulares, son estimuladas a salir de G0 y entran en G1 para iniciar un nuevo ciclo de división. Una vez que las células "regresan" a G1 continuarán las fases sucesivas del ciclo celular en las siguientes 12-24 horas. Esto ocurre generalmente en el hígado, páncreas y músculo liso, entre otros.

El mejor ejemplo de la capacidad de regeneración de las células quiescentes es el potencial del hígado para regenerarse tras una resección quirúrgica o después de una lesión ocasionada por agentes químicos y/o agentes virales.

Por otro lado, hasta los años 70, se sabía que la regeneración del sistema nervioso no podía ocurrir en la vida adulta.

A principios del siglo XXI, queda demostrado que la neurogénesis persiste en algunos grupos de mamíferos (por ej. primates: humanos). Durante la etapa posnatal y a lo largo de toda la vida, las neuronas continúan generándose en el bulbo olfatorio, en el giro dentado y, posiblemente, en algunas áreas corticales.

MITOSIS Y MEIOSIS

El proceso de división celular cumple un papel fundamental en los organismos multicelulares. Puede llevarse a cabo por dos procesos: mitosis y meiosis.

La **mitosis** ocurre en las células somáticas (todas las células del organismo a excepción de las células sexuales), permite el desarrollo, el crecimiento, y la reparación de los tejidos del organismo. Da como resultado dos células hijas con información genética idéntica, ya que se produce una duplicación del material genético (fase S) y una división nuclear.

La **meiosis** ocurre solamente en las células de la línea germinal (es decir, la línea celular que dará origen a las gametas), ubicadas en las gónadas masculinas (testículos) y femeninas (ovarios). Consiste en dos divisiones nucleares sucesivas y sólo una duplicación del material genético, por lo que cada núcleo hijo contiene la mitad del número de cromosomas presentes en el núcleo progenitor, recibiendo al azar sólo un miembro de cada par homólogo.

Por meiosis una célula diploide de la línea germinal origina células haploides o de complemento cromosómico único (haploos, único), las células sexuales o gametas (espermatozoides en el hombre y ovocitos, en la mujer) con 23 cromosomas en la especie humana. Pero además, en los estadios iniciales de la meiosis los cromosomas homólogos se acercan y se aparean en el proceso de sinapsis.

Durante la sinapsis ocurre el entrecruzamiento y en los puntos donde ocurre, tiene lugar el intercambio genético entre cada uno de los miembros de los cromosomas del par homólogo (materno y paterno).

Así se originan cromosomas recombinados, es decir con una nueva combinación de genes a partir de los cromosomas homólogos de los progenitores del individuo. A través de estos sucesos que ocurren durante la meiosis (entrecruzamiento y segregación al azar de cromosomas maternos y paternos) se recombina el material genético de los progenitores.

Cuando las células haploides producidas a partir de la meiosis (ovocitos y espermatozoides) se unen durante la fecundación, el genoma de ambos progenitores se reúne y forman una nueva identidad genética, restableciéndose el número de cromosomas característico de la especie.

CONTROL Y REGULACIÓN DEL CICLO CELULAR

La continuidad del ciclo celular es una tarea crucial para todos los organismos multicelulares, ya que determina el tamaño y forma del cuerpo, la renovación de tejidos, la senescencia y la reproducción.

La desregulación de la progresión del ciclo celular conduce a la proliferación celular descontrolada. Por lo tanto, no es sorpren-

dente que sea un proceso estrechamente regulado, con mecanismos de control multifacéticos y muy complejo.

El proceso de la replicación de ADN y la división de una célula, se pueden describir como una serie de eventos coordinados que componen un ciclo de división celular.

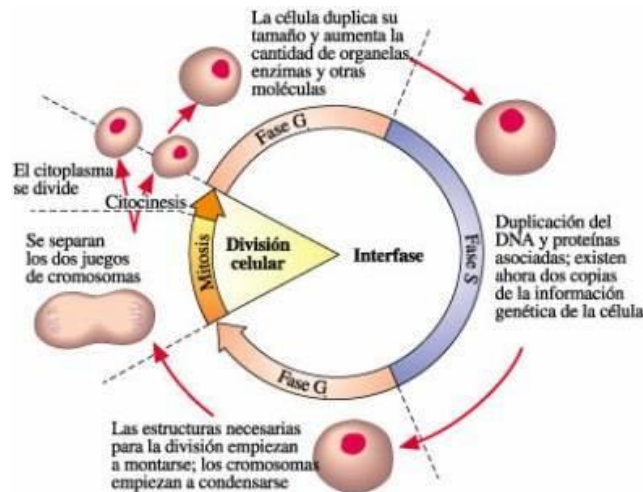


Fig. 4: Ciclo celular. Tomado de Purves y col. 2006

Se reconocen al menos dos tipos de mecanismos de control del ciclo celular: una cascada de fosforilaciones de proteínas y un conjunto de puntos de control que monitorean la finalización de los eventos críticos y retrasan la progresión a la etapa siguiente, si es necesario. Los puntos de control del ciclo celular funcionan para mantener la estabilidad genética, proporcionando tiempo adicional para la reparación de daños en el ADN y la terminación de los acontecimientos que son necesarios para la división celular precisa.

Este sistema de control es un mecanismo bioquímico compuesto por un conjunto de proteínas reguladoras interactivas: las ciclinas y las quinasas dependientes de ciclinas que inducen y coordinan los procesos básicos del ciclo, como la duplicación de ADN y la división celular, a los que se denomina procesos subordinados.

Cuando las células se encuentran en un punto de control deben recibir las señales adecuadas para la progresión del ciclo celular, en caso contrario éste se detiene o retrasa. Mientras que la maquinaria de con-

trol no reciba las señales apropiadas, la célula no hará la transición de una fase del ciclo celular a la siguiente. Así se minimiza la posibilidad de alteraciones y acontecimientos que afectan a la supervivencia celular y la estabilidad genética.

Cuando ocurren mutaciones en uno o más componentes de un punto de control del ciclo celular, las posibilidades de inestabilidad genética durante

la progresión del ciclo, aumentan. Además, las señales de retroalimentación que contienen información sobre los procesos subordinados pueden

detener momentáneamente el avance del ciclo, evitando el inicio del proceso siguiente antes que el precedente haya terminado. Por ejemplo, en el cáncer hay alteraciones esenciales en el control genético de la división celular, lo que resulta en una proliferación celular descontrolada.

Las mutaciones se producen principalmente en dos clases de genes: los proto-oncogenes y genes supresores de tumores. En las células normales, los productos de proto-oncogenes actúan a diferentes niveles a lo largo de las vías que estimulan la proliferación celular. Versiones mutadas de los proto-oncogenes u oncogenes pueden promover el crecimiento de un tumor.

La inactivación de genes supresores de tumores como p53 y pRb se debe a la disfunción de las proteínas que normalmente inhiben la progresión del ciclo celular. La desregulación del ciclo celular asociado con el cáncer se produce a través de muta-

ciones de proteínas importantes en los diferentes niveles del ciclo celular.

Existen al menos tres puntos de control:

Punto de control G1: En este punto el sistema evaluará la integridad del ADN, la presencia de nutrientes en el entorno y el tamaño celular. Aquí es donde generalmente actúan las señales que detienen el ciclo (arresto celular).

Punto de control G2:

En este punto, el sistema de control verificará que la duplicación del ADN se haya completado, si es favorable el entorno y si la célula es lo suficientemente

grande para dividirse.

Punto de control de la metafase o del huso: Verifica si los cromosomas están alineados apropiadamente en el plano ecuatorial antes de entrar en anafase. Este punto protege contra pérdidas o ganancias de cromosomas.

En líneas generales, ante la presencia de ADN dañado se genera una señal que retrasa la entrada en fase M. El mecanismo depende de una proteína llamada p53, que se acumula en la célula en respuesta a las alteraciones de ADN, deteniendo el sistema de control en G1 y por lo tanto impidiendo la posterior entrada en mitosis.

El gen p53 es uno de los genes supresores de tumores más conocidos, que no sólo detiene el ciclo (arresto celular), sino también participa en la apoptosis (muerte celular programada) forzando a las células a la muerte cuando el daño en el ADN es irreparable. Los genes supresores de tumores,

Cuando ocurren mutaciones en uno o más componentes de un punto de control del ciclo celular, las posibilidades de inestabilidad genética durante la progresión del ciclo aumentan.

codifican para productos celulares que inhiben la proliferación celular.

Las células que presentan los dos alelos del gen p53 mutados, tendrán proteína p53 no activa y por lo tanto continuarán dividiéndose a pesar del daño en su genoma, por lo tanto desarrollarán una neoplasia. Las mutaciones del gen p53 presentan una alta incidencia en la mayoría de los cánceres humanos.

Los genes denominados protooncogenes codifican proteínas que estimulan la división celular, por ejemplo, factores del crecimiento o receptores de factores del crecimiento. La mutación de uno de los dos alelos que codifican para un protooncogen, lo transforma en un oncogen capaz de originar productos celulares que estimulan la división celular de forma incontrolada resultado en una neoplasia, con alteración de los mecanismos de control del ciclo celular. Los seres vivos cuentan con una serie de mecanismos protectores que son desen-

cadenados cuando el material genético de una célula es afectado.

El daño en el ADN puede ser provocado por procesos endógenos o por agentes exógenos, que dirigirán procesos destinados a reparar dicho daño o, en casos extremos, dirigir la muerte de la célula (apoptosis) para evitar la propagación del daño. Si ninguno de estos mecanismos son suficientes, el daño se fijará como una mutación génica o cromosómica. Las mutaciones en células somáticas pueden causar trastornos del desarrollo y/o distintos tipos de cáncer mientras que las mutaciones en células germinales pueden provocar problemas reproductivos y/o enfermedades hereditarias en la descendencia. Las mutaciones tanto en células somáticas como germinales, son motivo de los próximos capítulos.

1. Aiassa, D., B. Bosch y S. Bevilacqua. 2010. Genética forense. El ADN en la justicia. Ed. Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto.
2. Alberts, B., D. Bray, K. Hopkin, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K Roberts y P. Walter. 2011. Introducción a la biología celular. Tercera Edición. Ed. Médica Panamericana.
3. Curtis, H., N.S. Barnes, A. Schnek y A. Massarini. 2008. Curtis Biología. Séptima Edición. Ed. Médica Panamericana.
4. Murray, R., D. Bender y K. Botham. 2010. Harper. Bioquímica Ilustrada Ed. 28ª. Ed. McGraw-Hill.
5. Palacios Urtasun, R. y P. Villoslada Díaz. 2005. Conceptos Básicos de Genética Molecular. Revista de Neurología 1(3):4-13
6. Purves, W., D. Sadava, O. Gordon y H. Craig Heller. 2006. Vida. La ciencia de la Biología. Ed. Médica Panamericana.
7. Rodríguez Fragoso, L., E. Hernández Baltasar y J. Reyes Esparza. 2004. El ciclo celular: características, regulación e importancia en el cáncer. Revista de Biotecnología Aplicada 21:60-69
8. Tume-Farfán, L. 2014. Implicaciones del estudio de inestabilidad del ciclo celular en la biología del cáncer. Revista CENIC Ciencias Biológicas 45 (3) pp. 200-209.
9. <http://faculty.washington.edu/trawets/vc/theory/dna/index.html>

CAPÍTULO 3. MUTACIONES y CÁNCER

Dra. Nora B M GORLA (CONICET)

Laboratorio de Genética, Ambiente y Reproducción (GenAR)

Universidad Juan Agustín (UMAZA), Mendoza

En los capítulos anteriores se explicó que los efectos tóxicos agudos son los efectos adversos que se observan luego de la exposición a una única dosis o varias dosis del agente tóxico y se manifiestan a corto plazo, usualmente dentro de las 24 horas; mientras que los efectos tóxicos crónicos son los que se manifiestan luego de una exposición a bajas dosis repetidas

durante un largo período

de tiempo, que puede

incluir muchos

años. El efecto ad-

verso persiste

durante un largo

período y en gene-

ral se manifiesta des-

pués de la exposición cróni-

ca. Los efectos tóxicos pueden ser

ocasionados por un agente químico, físico

o biológico.

Dentro de los efectos tóxicos crónicos son

importantes los efectos tóxicos sobre el material genético o efectos genotóxicos.

Estos también pueden eventualmente presentarse después de una exposición aguda

a dosis muy altas, pero son característicos

de la exposición crónica. En el primer caso la toxicidad aguda suele ser la manifestación de una exposición a gramos o miligramos del tóxico, mientras que la genotoxicidad se manifiesta muchas veces por exposición repetida a bajas dosis en el orden de picogramos o microgramos.

A diferencia de la toxicidad aguda, ámbito

de estudio de la toxicología clásica, la

genotoxicidad es ámbito de

estudio de la toxicología

genética, una rama de

la toxicología que

comprende el estudio

de todos los aspectos

relacionados con el

efecto de los agentes tóxi-

cos sobre la estructura y el fun-

cionamiento genético. Los genotóxicos

son los agentes que alteran principalmente

la estructura o el ordenamiento de los genes, rearreglándolos. Estas alteraciones son

el resultado de un daño al ácido desoxirri-

bonucleico (ADN) que se denomina mutación. Una mutación es una alteración o

cambio en el ADN que no es reparado y por lo tanto es permanente y heredable de

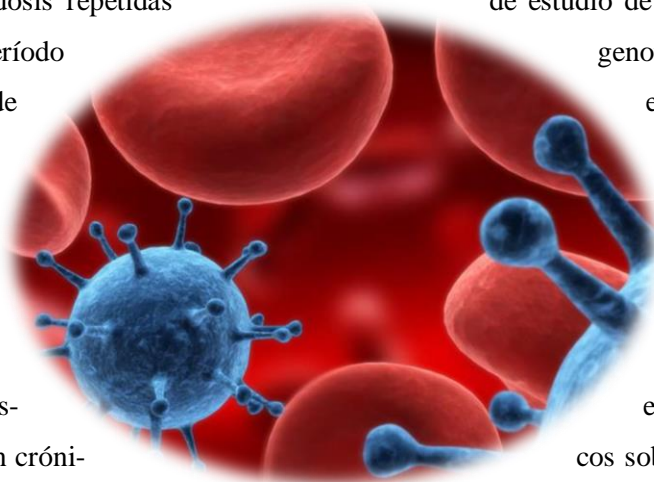


Imagen tomada de: <http://www.laprensa.hn/guiamedica/781626-418/las-mutaciones-aleatorias-son-responsables-de-alrededor-de-dos-terceras-partes-del>

célula a célula en los tejidos somáticos del individuo o de padres a hijos a través de las gametas. En los mamíferos hay una fuerte correlación entre la acumulación de mutaciones y el cáncer.

La Toxicología Genética se ocupa íntegramente de estudiar todos los aspectos de la genotoxicidad, proceso por el cual un agente interactúa con el ADN o con otras moléculas celulares que controlan la integridad del material genético. También se ocupa de los mecanismos celulares y moleculares de acción de genotóxicos, el desarrollo de ensayos de corto plazo para la detección de los mismos y para poder establecer conductas de prevención, la susceptibilidad genética diferencial de los seres vivos y el monitoreo de poblaciones humanas expuestas, entre las metas más destacadas.

GENOTÓXICOS

Los **genotóxicos** o tóxicos genéticos pueden contribuir al nivel basal de daño genético a través de mutaciones que en el curso de vida del individuo expuesto o en el futuro, aún en generaciones posteriores, pueden aumentar la manifestación de enfermedades genéticas incluyendo las neoplasias. Si se efectúa una correcta identificación de los genotóxicos, cómo actúan, cómo es la exposición a los mismos, es posible tomar medidas para reducir la exposición y minimizar el daño genético.

Las estructuras biológicas “blanco” de estudio son principalmente el ADN, y los

cromosomas o estructuras constituidas por ADN y proteínas nucleares.

En primer lugar, fue necesario comenzar a identificar genotóxicos y los diferentes ambientes donde estos podían encontrarse, y los tipos de exposición.

La exposición masiva e involuntaria está claramente ejemplificada como consecuencia de una exposición ambiental, ya sea en ciudades industriales con la característica eliminación aumentada de tóxicos al ambiente a través de emanaciones y vertidos industriales; o en las áreas rurales expuestas a los rociados de plaguicidas agrícolas; también a través del consumo de residuos de fármacos veterinarios como residuos en alimentos o por causa de hábitos como el de fumar o la exposición solar. También existen ejemplos históricos de exposición masiva a genotóxicos como las bombas atómicas de Hiroshima y Nagasaki (1945), los accidentes nucleares de Nebraska (1950s), Chernobyl (1986), Tokaimura (1990); y los accidentes químicos de Seveso (1976) y Bhopal (1984). Más recientemente Fukushima (2011), uno de los accidentes nucleares más grandes de la historia después de Chernobyl.

En relación a la exposición ocupacional, los metales pesados, ciertos solventes, las radiaciones y una gran diversidad de agroquímicos son agentes de probada genotoxicidad.

Finalmente la exposición individual a agentes de radiodiagnóstico, rayos X, fármacos como quimioterápicos, antimicrobianos, antiparasitarios y promotores de crecimiento son claros ejemplos de exposición diagnóstico-terapéutica.

Muchos estudios avalan el riesgo de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, de los metales pesados, los plaguicidas agrícolas, bifenilos policlorados y dioxinas, en la integridad del material genético de poblaciones humanas y del riesgo ambiental de los mismos con repercusiones en el hombre, las poblaciones animales domésticos y la vida silvestre.

Las actividades de minería y hornos de fundición han producido daño ambiental causado por metales pesados y contaminantes asociados, el arsénico, cadmio, cromo, mercurio, níquel plomo, son genotóxicos. Pero, sin lugar a dudas, ningún contaminante ha ejercido una carga tan pesada al ambiente como los plaguicidas organoclorados.

Los genotóxicos pueden alterar la estructura o el ordenamiento de los genes formados por el ADN produciendo mutaciones.

Tres procesos biológicos comparten al material genético como blanco de sus efectos: **mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis**. Se ha cuantificado que más del 90% de los mutágenos químicos son también teratógenos y que la inmensa mayoría de los cancerígenos son mutágenos, por lo tanto son procesos diferentes, pero están relacionados.

MUTAGÉNESIS

Como su nombre lo indica se denomina mutagénesis al proceso por el cual se generan las mutaciones o cambios heredables en la secuencia del ADN. Estos cambios pueden ser pequeños como cuando involu-

cran el cambio de una sola base (mutación puntual), o involucrar cientos o miles de bases nitrogenadas del ADN.

Existen al menos seis tipos posibles de mutaciones moleculares distinguibles causadas por cambios en las bases nitrogenadas: sustitución, desaminación, delección, inserción o adición, translocación, inversión.

Muchos estudios avalan el riesgo de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, de los metales pesados, los plaguicidas agrícolas, bifenilos policlorados y dioxinas, en la integridad del material genético de poblaciones humanas y del riesgo ambiental de los mismos con repercusiones en el hombre, las poblaciones animales domésticos y la vida silvestre.

Las adiciones y delecciones pueden involucrar el agregado extra y la pérdida de un nucleótido, respectivamente, y pueden involucrar sólo un nucleótido o ser extendidas involucrando muchos nucleótidos. Las inversiones aluden a la inversión del orden de la secuencia de nucleótidos y las trans-

locaciones al cambio de ubicación de una secuencia.

Las mutaciones a nivel de una sola base son principalmente sustituciones, desaminaciones y alquilaciones. Las adiciones y deleciones pueden ser de uno o más nucleótidos. Hay mutaciones que ocupan dos nucleótidos como la formación de dímeros de timina, que de este modo no pueden expresar su información genética. La radiación ultravioleta es productora de dímeros de timina. Diariamente se producen un número importante de mutaciones espontáneas, principalmente por errores durante la síntesis o replicación del ADN. Estas mutaciones parecen no tener una causa externa. Una tasa mayor de mutaciones se produce cuando el ADN es expuesto a genotóxicos ambientales.

Además de las mutaciones a nivel de bases nitrogenadas del ADN, se pueden producir alteraciones más grandes que involucren segmentos de cromosomas: Las mutaciones están asociadas con muchos tipos diferentes de cambios en la secuencia del ADN, que a nivel de cromosomas incluyen: inversiones, deleciones, translocaciones, duplicaciones.

Como sus nombres lo indican estos rearrreglos involucran respectivamente cambios en la orientación de un fragmento en la inversión, pérdida de material cromosómico en la deleción, intercambio de material entre dos o más cromosomas en la translocación, y repetición de un fragmento de cromosoma en la duplicación. Los citados son rearrreglos cromosómicos estructurales. También hay rearrreglos cromosómicos numéricos generados por mutágenos aneu-

ploidizantes, que resultan en la falta o el exceso de un cromosoma, generalmente producto de una no disyunción incorrecta de los cromosomas durante la meiosis.

Para que se produzca una deleción es necesario que se haya producido un efecto clastogénico, así se denomina al efecto de rotura de una o ambas cromátidas del cromosoma. Este tipo de daño resulta comúnmente de la exposición a la radiación ionizante, debido a que los agentes tipo rayos X tienen suficiente energía para crear múltiples roturas en el ADN.

Muchos rearrreglos cromosómicos son mitóticamente inestables y se pierden cuando las células que tienen los cromosomas alterados mueren en el intento de efectuar división celular. Otras alteraciones, como las translocaciones cromosómicas, pueden persistir por tiempos prolongados. Si estos rearrreglos ocurren en sitios donde se localizan genes, pueden ocurrir mutaciones a nivel de genes y manifestarse en alteraciones clínicas. Por ejemplo en la leucemia mieloide crónica se presenta la translocación recíproca 9; 22, tanto el cromosoma 9 como el 22 han sufrido una rotura de cromátidas para poder translocarse.

En cuanto a los agentes que alteran o cambian la información genética, se describen dos grandes grupos de mutágenos: radiaciones y compuestos químicos.

Radiaciones

* Ionizantes: Los rayos X, gamma, alfa, beta, desplazan electrones, producen mutaciones génicas y cromosómicas entre las que se destacan roturas de ADN y entrecruzamientos covalentes entre las dos cadenas de ADN.

* No ionizantes: La radiación UV produce dímeros de timina.

Mutágenos químicos

Benzopireno, gas mostaza, 5-BrdU y 2-aminopurina (análogos de bases), naranja de acridina y bromuro de etidio (agentes intercalantes), etilmetano sulfonato, nitrosoguanidina, modificadores de nucleótidos, tautomerizantes, desaminantes, alquilantes, mutágenos presentes en el humo del cigarrillo.

Cada uno de estos mutágenos tiene su modo específico de interacción con el ADN.

Las mutaciones pueden causar al menos dos tipos de problemas. En primer lugar, pueden contribuir al nivel de daño en la carga genética (del inglés “genetic load” o “genetic burden”) o acumulación del nivel de daño genético. Se ha calculado que cada persona es portadora de 4 a 8 mutaciones potencialmente letales en el total de aproximadamente 30.000 genes que comprende el genoma humano.

La otra consecuencia de las mutaciones es participar en el desarrollo de cáncer.

CARCINOGENÉISIS

Como su nombre lo indica, se denomina carcinogénesis, al proceso por el cual se genera algún tipo de cáncer. Esencialmente, todos los cánceres son el resultado de varias mutaciones (cambios heredables en el material genético) principalmente en proto-oncogenes y genes supresores de tumores que normalmente son responsables del desarrollo y la proliferación celular, y otras actividades celulares funda-

mentales. Se expone una definición completa de carcinogénesis: *proceso en múltiples etapas, que se activa por la expresión alterada de factores transcripcionales y proteínas involucradas en la proliferación, regulación del ciclo celular, diferenciación, apoptosis, angiogénesis, invasión y metástasis.*

La división celular es regulada por ciclinas y proteínas quinasas dependientes de ciclina, también mediante una familia de factores de crecimiento extracelulares. Defectos en la síntesis, regulación o reconocimiento de las proteínas que provocan la división de las células latentes y en algunos casos la diferenciación celular, pueden originar cáncer. La evolución de la célula cancerosa requiere muchos años y que se produzcan mutaciones en un número de genes diferentes, por esta razón la incidencia del cáncer aumenta con la edad y con la exposición a mutágenos. Las células cancerosas transformadas tienen requerimientos mínimos o nulos de factores de crecimiento, han perdido la inhibición por contacto con sus células vecinas y son de-diferenciadas, es decir, han perdido su tipo celular particular, tienen material genético inestable, son inmortales y pueden dividirse indefinidamente.

GENES DEL CÁNCER

Las mutaciones en tres categorías de genes son importantes en muchos tumores: genes promotores de crecimiento u oncogenes, genes supresores de tumores y genes de reparación del ADN.

Los **oncogenes** presentes en el genoma humano fueron los primeros genes descritos en relación al cáncer, años más tarde se describen los **genes supresores de tumores**. Para que ambos tipos de genes participen en la iniciación de un proceso tumoral es necesario que ocurran mutaciones. Una única mutación es insuficiente para inducir un proceso neoplásico. Son varias mutaciones producidas a lo largo de la vida del hombre y en este contexto es donde debemos considerar los efectos del ambiente en el desarrollo neoplásico. Las agresiones externas, los efectos tóxicos sobre el material genético, en forma repetida, son necesarios para el desarrollo neoplásico.

GENES PROMOTORES DE CRECIMIENTO U ONCOGENES

En 1979 Weinberg descubre los oncogenes celulares, mutaciones de los proto-oncogenes los cuales son genes normales de la célula que al mutar, por una alteración génica o cromosómica, se transforman en oncogenes y adquieren actividad promotora de crecimiento tumoral. En su accionar genético los oncogenes son dominantes, es decir en heterocigosis pueden expresar su función alterada, uno solo de los alelos que mute a dominante afectará el funcionamiento normal de ese gen. La mayoría de los proto-oncogenes codifican enzimas llamadas qui-

El gen supresor de tumor p53, codificante de la proteína p53 participa en la respuesta celular al control de la reparación del ADN, controla puntos de chequeo del ciclo celular y regula la apoptosis, todos procesos que disminuyen la tasa de muerte celular.

nasas: tanto receptores de factores de crecimiento con actividad de quinasa como quinasas sin dominio de receptores. Hay oncogenes que codifican proteínas de secreción, factores de crecimiento (factor de crecimiento derivado de plaquetas PDGF), receptores de transmembrana (receptor de factor de crecimiento epidérmico EGFR), proteínas citoplasmáticas (proteínas G y proteínas quinasas) transductoras de señales proteína ras y factores de transcripción nuclear (proteína myc) que controlan la expresión de genes esenciales para la división celular. Los proto-oncogenes pueden ser mutados a oncogenes por la intervención de un retrovirus de un mutágeno químico o de algún tipo de radiación mutagénica.

GENES SUPRESORES DE TUMORES

Los genes supresores de tumores codifican proteínas que normalmente restringen la división celular. En 1986 se descubre el gen supresor de tumor pRb, el gen codificante de la proteína de retinoblastoma que es un regulador del ciclo celular debido a que limita la progresión de la fase G1 a la fase S del ciclo celular. El gen supresor de tumor p53, codificante de la proteína p53 participa en la respuesta celular al control de la reparación del ADN, controla puntos de chequeo del ciclo celular y regula la apoptosis, todos procesos

que disminuyen la tasa de muerte celular. En su accionar genético los genes supresores de tumores son genes recesivos, es decir expresan su falta de función en estado homocigoto por lo tanto ambos alelos del gen tienen que haber mutado a recesivos. En más del 90% de los cánceres de piel y en el 50% del resto de los cánceres el gen p53 presenta mutaciones. Otros ejemplos de cánceres asociados con genes supresores de tumores son: poliposis adenomatosa colónica (APC), tumor de Willm's (WT1), neurofibromatosis tipo 1 (NF1), neurofibromatosis tipo 2 (NF2), neoplasia endocrina múltiple (MEN2).

GENES DE REPARACIÓN DEL ADN

En primer lugar se rescata que no todas las lesiones al ADN son dañinas, por ejemplo la diversidad del sistema inmune es posible por la conmutación de clase de los anticuerpos, que depende de la desaminación de citosinas en regiones específicas de los genes de las inmunoglobulinas. Además, la evolución de las especies es posible porque ocurren mutaciones ventajosas.

Las mutaciones no deseables se perpetúan en una línea celular si después de producidas la célula logra dividirse. Si la mutación permanece, afortunadamente el daño puede repararse. Se han identificado hasta el momento 130 genes que participan en la reparación del ADN. La reparación del ADN es posible porque la molécula de ADN consta de dos cadenas complementarias. La lesión en una cadena puede ser

eliminada y reemplazada de forma precisa, usando de molde la cadena complementaria no dañada. Los daños al ADN que escapan a la reparación permanecen como mutaciones, pero aún pueden ser eliminados mediante apoptosis o muerte celular programada. Sólo si la reparación del ADN fue infructuosa y la apoptosis no fue posible, la célula con mutaciones permanece y la mutación puede fijarse si sobreviene una división celular posterior.

Actualmente se indica que un mínimo de 3 eventos son necesarios para el desarrollo neoplásico: la activación del oncogén ras, la inactivación de p53 y Rb y la expresión del gen de reparación Tert.

CAMBIOS CROMOSÓMICOS EN EL CÁNCER

Los cambios cromosómicos en las células somáticas están involucrados en la iniciación y la progresión de muchos tipos de cánceres. Cambios cromosómicos específicos son característicos de determinados tipos de cánceres. Como se citó, la translocación 9; 22 es una anomalía cromosómica estructural característica de las células malignas de los pacientes con leucemia mieloide crónica y un indicador diagnóstico fuerte. También incluye la yuxtaposición abl- bcr, una mutación de proto-oncogenes que resulta en una proteína incorrecta. Las radiaciones pueden producir estas altera-

ciones cromosómicas y ésta sería una razón por la que las mismas pueden ocasionar el desarrollo de leucemia.

Todos los tumores malignos tienen rearrreglos cromosómicos específicos que son más numerosos y complejos en los períodos más tardíos e invasivos que en los estadios primarios de desarrollo del tumor.

DESARROLLO NEOPLÁSICO, PROCESO EN MÚLTIPLES ETAPAS

El desarrollo neoplásico es un proceso que comprende al menos tres etapas: Iniciación (I), Promoción (P) y Progresión (PRO).



La **iniciación** es una mutación irreversible producida por xenobióticos. Las células iniciadas no se identifican por los métodos diagnósticos de rutina. La promoción implica la división sin control y en forma clonal de células iniciadas. Para producirse debe haber una exposición continuada a genotóxicos, por factores de dieta, hormonales y ambientales. En el estado de células en promoción ya es posible detectar la neoplasia por los métodos diagnósticos de rutina.

Es importante recalcar que los agentes promotores no son iniciadores. La promoción se considera un proceso reversible, si no existe la acción de promotores no continúa.

La **progresión** es el período de metástasis del tumor o invasión a las células vecinas. Es un proceso irreversible. Las alteracio-

nes en el material genético son en este período morfológicamente detectables y cuantificables.

La participación de los radicales libres y la posibilidad de producir daño oxidativo, es importante en el proceso neoplásico, tanto en la iniciación, como en la promoción y progresión tumoral. Los agentes químicos con actividades carcinogénicas requieren en general de una activación metabólica. El efecto más destacado de los promotores tumorales es la activación peroxidativa de las células polimorfonucleares.

MODIFICACIÓN OXIDATIVA DEL ADN

Los radicales libres y/o especies oxidantes tienen importancia fisiológica y fisiopatológica en la interacción con el material genético. Se considera un radical libre a cualquier átomo o molécula que contenga uno o más electrones sin aparear. Si son derivados del oxígeno se las conoce como especies reactivas del oxígeno (ROS): anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH^\cdot). Este último es el más reactivo, es altamente tóxico para las células, y puede provocar la peroxidación de lípidos o la mutación del ADN. Los fosfolípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos son afectados por las especies oxidativas. La lesión oxidativa distorsiona el metabolismo celular, produce disminución de la elasticidad de membrana, mutaciones, y muerte celular.

El radical hidroxilo tiene una vida media de nanosegundos. Peróxidos e hidroperóxidos lipídicos presentan mayor estabilidad

y por lo tanto su acción citotóxica es más prolongada. La alta reactividad del $\text{OH}\cdot$ impide su difusión a largas distancias a través de la célula. La lesión oxidativa del ADN puede afectar la expresión genética de proto-oncogenes y genes supresores de tumores, puede inducir mutaciones puntuales, delección de fragmentos polinucleotídicos, roturas de simple y doble cadena del ADN, alteraciones cromosómicas, formación de micronúcleos, daño a proteínas histónicas y distorsión de las señales de traducción, todos procesos implicados en la presentación, desarrollo y expansión tumoral, en la transformación maligna celular.

La reactividad de las bases nucleotídicas con el radical hidroxilo es extremadamente alta, mientras que para la desoxirribosa esta reactividad es cinco veces menor aunque es el daño más común infringido al ADN. Los radicales libres del nitrógenos (RNS) también pueden efectuar daño oxidativo al ADN. El óxido nítrico reacciona con el radical superóxido para formar el peroxinitrito, un potente oxidante que interactúa con la guanina para formar varias bases oxidadas.

ESTRATEGIAS ANTIOXIDANTES

La célula dispone de defensas antioxidantes, enzimáticas y no enzimáticas. La superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y la glutatión peroxidasa (GPx) dan cuenta del primer grupo. Las vitaminas antioxidantes como la E o la C, los β -carotenos, proteínas plasmáticas, glutatión reducido (GSH),

son los principales representantes de los sistemas no enzimáticos.

Las superóxido dismutasas son enzimas que eliminan el radical superóxido. Las catalasas protagonizan 2 tipos de reacciones: la dismutación de dos moléculas de peróxido de hidrógeno, y la peroxidación en la que se utiliza un sustrato inespecífico como reductor para transformar una sola molécula de peróxido de hidrógeno en dos de agua. Las glutatión peroxidadas eliminan hidroperóxidos utilizando GSH como reductor. Las glutatión reductasas reducen una molécula de glutatión oxidado (GSSG) a dos de GSH a expensas de equivalentes de reducción en forma de NADPH.

La vitamina C puede eliminar el radical superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$). El glutatión puede actuar como antioxidante en reacciones enzimáticas como las medidas por glutatión peroxidasa GPx o no enzimáticas. Puede reaccionar con los radicales O_2^- y $\text{OH}\cdot$. La vitamina E suele ser el principal antioxidante de las membranas animales, junto con los carotenos.

Cuando en los tejidos existe una perturbación del equilibrio entre las sustancias prooxidantes y las estrategias antioxidantes a favor de las primeras, se presenta estrés oxidativo, que además de las modificaciones citadas parece estar implicados en la presentación de enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares, y relacionado con el envejecimiento.

CARCINOGENESIS TRANSPLACENTARIA: CÁNCER INFANTIL

Se han vinculado algunas exposiciones ocupacionales y/o ambientales con cáncer infantil. El período de latencia de la leucemia infantil puede variar entre dos a diez años después del inicio de la exposición, lo que indica que las exposiciones a agentes tóxicos en el útero o en el primer período postnatal pueden ser causa de dicha enfermedad. Por ejemplo, se ha asociado la exposición de los padres a plaguicidas organoclorados con leucemia infantil, como así también, el riesgo de osteosarcoma de Ewing en niños por exposición a herbicidas. También, se han demostrado asociaciones entre las exposiciones paternas a pinturas y a hidrocarburos, con leucemias infantiles y cáncer del sistema nervioso central.

En particular, la exposición a radiación ionizante en exámenes radiológicos a mujeres embarazadas incrementa hasta un 50% la probabilidad de leucemia aguda linfoblástica y mieloides, entre sus descendientes, estando el riesgo directamente relacionado con el número de exploraciones realizadas.

En el caso de los niños, también pueden estar expuestos a agentes transmitidos a través de la leche materna y fuentes directas ambientales y dietéticas, además de las exposiciones laborales de sus madres y padres. Por ejemplo, los plaguicidas tales como el Glifosato y bifenilos policlorados (PCB), no solamente pasan a través de la leche materna sino que aún se pueden con-

centrar. A dosis elevadas, los clorados producen neurotoxicidad y en animales silvestres y de experimentación se ha observado hepatotoxicidad, cáncer y disfunciones de la reproducción.

EPIGENÉTICA DEL CÁNCER

En los últimos años ha habido un creciente esfuerzo en la identificación ambiental y ocupacional de agentes cancerígenos y en la vinculación de los mismos con una variedad de cánceres humanos. Los mecanismos epigenéticos involucran el silenciamiento de los genes supresores de tumores y / o la activación de proto-oncogenes. La lesión epigenética más estudiada es la hipermetilación del ADN en la región promotora de muchos genes, y es responsable de silenciar más de 600 genes relacionados con el cáncer. Ellos incluyen genes supresores de tumores, genes implicados en el ciclo celular, la regulación, la reparación del ADN, la angiogénesis, la metástasis y la apoptosis. Una metilación incorrecta del ADN, modificaciones de las histonas, patrones remodelación de la cromatina y patrones de microARN son características epigenéticas importantes de los estados inflamatorios y cáncer.

FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE CÁNCER

Al relacionar los carcinógenos con los órganos blanco donde predominantemente se desarrollan neoplasias en el hombre, la Sociedad Internacional de Oncología Preventiva expone 12 factores de riesgo. Cada uno de estos agentes tiene 1 o más órganos

blanco o más susceptibles, en los que puede promover un proceso de producción de cáncer.

Ordenados desde el factor que acredita el mayor número al menor número de órganos blanco encontramos: tabaco, dieta, inflamación crónica, xenobióticos, factores familiares, obesidad, virus, hormonas, radiación ionizante, alcohol, asbestos, radiación ultravioleta.

El más riesgoso es el tabaco con 10 órganos y tejidos blanco y en el otro extremo la radiación UV, responsable de un alto número de cánceres de piel, cabeza y cuello.

Las principales causas de cáncer, responsables de 1/3 del total son hábito de fumar, los factores de la dieta, infección e inflamación crónica. Se considera que el 70- 80 % de los cánceres son evitables con la modificación del ambiente que incluye principalmente los hábitos cotidianos, por lo tanto el énfasis en la educación para la prevención debe ser un factor importante en esta patología.



Factores de riesgo para desarrollo del cáncer.

Imágenes tomadas de: <http://www.msal.gov.ar/inc/index.php/acerca-del-cancer/el-cancer-/factores-de-riesgo-y-prevencion>

1. Dixon, K. y E. Koprás. 2004. Genetic alterations and DNA repair in human carcinogenesis, *Sem. Cancer Biol.*, 14, 441-448
2. Dizdaroglu, M. 2012. Oxidatively induced DNA damage: mechanisms, repair and disease. *Cancer Lett.* 2012 31:26-47.
3. Elattar, I. A., N. M. Hassan, M. M. Lamee y A. A. Elbasmy. 2005. Cancer profile at the National Cancer Institute, Egypt, 2002-2003. *Journal of Clinical Oncology. -ASCO Annual Meeting Proceedings.* 23: 16S.
4. Environmental Mutagen Society, http://www.ems_us.org/index.asp
5. Environmental Protection Agency (EPA), <http://www.epa.gov/nepis>.
6. Genetic Toxicology Association, <http://www.ems-us.org/gta/>
7. Gorla, N. B. M. 2006. Efectos tóxicos sobre el material genético: mutagénesis y carcinogénesis. Imprenta de la Universidad Maza, Mendoza.
8. Gupta, R. K., A. K. Patel, R. Kumari, S. Chugh, C. Shrivastav et al., 2012, Interactions between oxidative stress, lipid profile and antioxidants in breast cancer: a case control study. *Asian Pac J Cancer Prev* 13: 6295-6298
9. International Agency for research on Cancer, IARC, <http://www.iarc.fr>.
10. International Union of Toxicology, <http://www.iutox.org/>
11. Jiang, P., W. Du y X. Yang. 2013. Review Article: p53 and regulation of tumor metabolism, *J Carcinog* 2013, 12:21.
12. Klaunig, J. E., L. M. Kamendulis y B. A. Hocevar. 2010. Oxidative Stress and Oxidative Damage in Carcinogenesis, *Toxicol Pathol* January, 38: 96-109.
13. Matés, J. M., J. Segura, F. Alonso y J. Márquez. 2010. Roles of dioxins and heavy metals in cancer and neurological diseases using ROS-mediated mechanisms *Free Radical Biology & Medicine* 49: 1328 -1341.
14. Mitelman, F, B. Johansson y F. Mertens. 2001. Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer (<http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>).
15. National Institute for occupational safety and health (NIOSH), <http://www.cdc.gov/niosh/homepage.html>.
16. Occupational Safety and Health Administration (OSHA), <http://www.osha.gov>.
17. Society of Toxicology, <http://www.toxicology.org/>
18. Sugimura, T. 2002. Food and cancer, *Toxicology* 181- 182, 17- 21.
19. Szarc vel Szic, K., M. Ndlovu, G. Haegema y W. B. Berghe. 2010. Nature or nurture: Let food be your epigenetic medicine in chronic inflammatory disorders, *Biochemical Pharmacology* 80, 1816-1832.
20. The National Cancer Institute (NCI), <http://www.cancer.gov>. 35
21. Ziecha, R. F., A. Pappa, V. Malamou-Mitsi, S. Georgakila, A. Georgakilas y M. Panayiotidis. 2010. The role of epigenetics in environmental and occupational carcinogenesis, *Chemico-Biological Interactions* 188, 340-349.

TOXICIDAD DEL DESARROLLO

Lic. Natalia GENTILE

Departamento de Ciencias Naturales

Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales

Universidad Nacional de Río Cuarto

Las condiciones ambientales en que viven y trabajan las personas incluyen la exposición a diversos agentes físicos, químicos y biológicos, productos de la tecnología y del avance científico experimental, así como de las ocupaciones, oficios y profesiones que generan un ambiente particular. Estos agentes pueden resultar nocivos para la salud del individuo y en muchos casos afectar la reproducción. Dentro de estos existen algunas sustancias químicas capaces de modificar el material hereditario de las células germinales.

La probabilidad de que una determinada sustancia cause un efecto sobre el material genético depende de diversas variables, como el nivel de exposición del organismo a la sustancia, la distribución y retención de ésta una vez que ha penetrado en el cuerpo, la eficiencia de los sistemas de activación metabólica y/o detoxificación en los tejidos blanco y la reactividad de la sustancia o de sus metabolitos con macromoléculas críticas de las células.

Sin embargo, la probabilidad de que el efecto produzca una consecuencia en la salud del organismo, depende de la naturaleza del daño, la capacidad que posee la célula de reparar o amplificar el daño, la

oportunidad de expresar cualquier alteración que se haya inducido y la capacidad del organismo de reconocer y suprimir la multiplicación de células dañadas.

Las sustancias genotóxicas pueden unirse directamente al ADN, provocando algún tipo de modificación en la estructura de la molécula, actuar indirectamente sobre las proteínas involucradas en la reparación del ADN o en la segregación cromosómica causando, como consecuencia, mutaciones génicas o cromosómicas que pueden o no ser irreversibles y pueden o no derivar en algunas patologías como el cáncer, problemas reproductivos y malformaciones y enfermedades genéticas en la descendencia.

Las mutaciones pueden producirse tanto en las células germinales como en las células somáticas. Las consecuencias de una y otra son distintas, en términos de la población y del individuo. Los cambios que se generan en las gametas pueden provocar esterilidad en el individuo portador o bien fijarse en el material genético, lo que se traduce en cambios heredables (mutagénesis). Si las mutaciones se producen en células somáticas el individuo puede desarrollar enfermedades, o bien iniciar el proceso neoplá-

sico (carcinogénesis). Los cambios genéticos también pueden provocar durante el desarrollo embrionario alteraciones en el embrión, proceso conocido como teratogénesis.

Mutagénesis y carcinogénesis han sido desarrolladas en el capítulo anterior, por lo tanto se realizará una explicación sobre teratogénesis, comenzando con toxicidad reproductiva y del desarrollo.

TERATOGENÉNESIS

Los teratógenos son agentes que alcanzan al embrión o al feto por vía materna y que son capaces de causarle anomalías estructurales o funcionales, interfiriendo en mecanismos de morfogénesis y/o diferenciación y ejerciendo su efecto a través de diversos mecanismos. Los agentes teratogénicos dañan directamente al embrión o al feto en dosis que no afectan a la madre, son un tipo de sustancias tóxicas del desarrollo. Entre los efectos teratogénicos se pueden mencionar: órganos o estructuras tisulares anormales, funcionamiento metabólico o químico deficiente y retardo mental. Un teratógeno ampliamente estudiado es el plomo. Otros teratógenos químicos supuestos o conocidos incluyen la dioxina, el mercurio orgánico, el arseniato de sodio y varias sustancias contenidas en el humo del cigarrillo.

Tres áreas de estudio básicas según la etapa o la forma de afectación, son consideradas en el estudio de los compuestos que dañan a los organismos a lo largo de su desarrollo:

- 1- la teratología, que es el estudio de los defectos inducidos durante el desarrollo, entre la concepción y el nacimiento.
- 2- la toxicología de la reproducción, que es el estudio de la aparición de fenómenos adversos sobre el aparato reproductor masculino o femenino, los que pueden aparecer por la exposición a ciertos agentes químicos o físicos. Las principales manifestaciones de este tipo de toxicidad son las alteraciones en el comportamiento sexual, la reducción de la fertilidad, las interrupciones del embarazo y la modificación de las funciones que dependen de la integridad del proceso reproductivo. Involucra a la pareja y no solo al individuo.
- 3- la toxicología del desarrollo, que es el estudio de los efectos adversos sobre el organismo, los cuales ocurren en cualquier momento y que pueden sobrevenir por la exposición a agentes químicos o físicos antes de la concepción de uno u otro progenitor durante el desarrollo prenatal, o después del nacimiento y hasta el momento de la pubertad.

Las manifestaciones de la toxicidad, en este caso, incluyen alteraciones en el crecimiento, alteraciones funcionales o estructurales y trastornos del desarrollo.

En cuanto a los defectos congénitos (malformaciones físicas o deficiencias funcionales), se ha estimado que el 47% ocurre

por causas desconocidas, 25% son genéticos, 25% son multifactoriales (es decir una combinación de factores genéticos y ambientales) y 3% son causados por agentes físicos, químicos o biológicos.

Durante la etapa gestacional tanto el embrión como el feto se encuentra bajo la influencia de factores ambientales que actúan en gran medida por intermedio de la madre, así las exposiciones maternas también lo son para el feto y de esta manera se establece un nexo entre las alteraciones del desarrollo embrionario y/o fetal y la presencia en el ambiente de genotóxicos de diverso origen.

Estudios toxicológicos en animales proporcionan evidencias que altas dosis de algunos plaguicidas pueden alterar la función reproductiva y producir defectos al nacer, pero son pocos los estudios epidemiológicos realizados de exposición a plaguicidas y toxicidad reproductiva en humanos.

Se ha observado que la descendencia de los agricultores tiene un mayor riesgo de anomalías congénitas. Mientras que las anomalías congénitas en la primera mitad de la década del 90 representaron alrededor del 20% de las muertes fetales durante el primer año de vida en algunos países, en otros, el porcentaje fue de casi el 40%.

Desde 1992 ha habido un gran número de estudios examinando la asociación entre plaguicidas y malformaciones congénitas en USA, España, América Latina, Noruega, Finlandia, Dinamarca, Filipinas y Canadá. Una variedad de diseños de investigación fue empleado incluyendo: caso-control, retrospectivo de cohorte, de corte

transversal, y ecológicos. La exposición a plaguicidas fue medido indirectamente a través de documentos de trabajo, cuestionarios, datos de censos, base de datos, y lugar de residencia: industrial, agrícola o urbana. Unos pocos estudios utilizaron revisión higienista industrial, o una estimación experta de la exposición en un intento de representar con mayor seguridad los datos de la exposición.

Numerosos estudios demuestran la relación entre la exposición a agentes tóxicos y alteraciones reproductivas. En este sentido, la exposición a agentes genotóxicos se asocia principalmente a trastornos en la fertilidad, embarazo y desarrollo, carcinogénesis transplacentaria y del período postnatal.

Muchos de los compuestos que están clasificados como teratógenos tienen potencial genotóxico y varios de los mecanismos relacionados en estos procesos involucran la producción de micronúcleos.

Los **micronúcleos** son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que quedan fuera del núcleo en la mitosis y mediante su estudio se puede evaluar genotóxicos y carcinógenos ambientales y ocupacionales.

El efecto teratogénico de un compuesto puede ser diferente entre especies, esta característica hace que se requiere más de una prueba para la evaluación del potencial teratogénico de una sustancia y existen estudios basados en el aumento de la frecuencia de micronúcleos en células de hígado fetal de ratón o rata, sangre fetal de ratón, sangre de ratón recién nacido, culti-

vos de linfocitos de sangre de cordón o hígado fetal de hámster.

Se conoce que, en humanos, factores de la dieta afectan el número de micronúcleos. Deficiencias dietéticas de folatos se han asociado con anemias, defectos al nacimiento, cáncer y desórdenes neuropsiquiátricos, e inducen aumento del daño al ADN, que puede incrementar la genotoxicidad de agentes químicos. Además produce incorporación masiva de uracilo dentro del ADN humano y rupturas cromosómicas, sin embargo, los niveles de uracilo y la elevada frecuencia de micronúcleos se revierten con la administración de folatos. Otras investigaciones han revelado que el ácido fólico juega un papel crucial en la embriogénesis.

GESTACIÓN y DESARROLLO

La alteración de células germinales antes del embarazo o la exposición del embrión y/o el feto a tóxicos durante el embarazo pueden afectar su desarrollo.

El consumo de alcohol en humanos y ratones durante la preñez tiene efectos adversos sobre el desarrollo del feto (síndrome alcohólico fetal), como así también altera la fertilidad y el ciclo reproductivo, aumenta la frecuencia de abortos, de retrasos en el desarrollo intrauterino y de nacimientos prematuros y/o de bajo peso al nacer.

Estudios recientes en ratones de la cepa CF-1 informan que la ingestión subcrónica de alcohol produce anormalidades espermáticas y nucleares en ovocitos, probablemente debidas a su efecto genotóxi-

co. En *Drosophila* ya en los años 90 se observaba que el consumo de alcohol disminuía la fertilidad de las hembras, alteraba el desarrollo larval normal y aumentaba significativamente la frecuencia de malformaciones congénitas.

Drosophila se ha convertido en un modelo ampliamente aceptado para hacer el relevamiento preliminar de sustancias con efectos sobre el desarrollo y/o teratogénicos con posible acción incluso en el hombre.

En el año 2009, el Dr. Andrés Carrasco anunció los descubrimientos de su equipo de investigadores sobre las malformaciones que causa el herbicida glifosato en los embriones de anfibios en dosis mucho más bajas que las utilizadas en la pulverización agrícola. Además, los embriones de anfibios como los de pollo tratados con el herbicida desarrollaron malformaciones similares a las observadas en la progenie humana expuesta a dichos herbicidas.

Entre los efectos que se hallaron repetidamente estaban: el tamaño de la cabeza reducido, alteraciones genéticas del sistema nervioso central, un aumento en la muerte de células que contribuyen a la formación del esqueleto, y deformaciones en los cartílagos. Los autores concluyeron que los resultados llevan a plantearse «inquietudes sobre los efectos clínicos en la progenie humana de las poblaciones expuestas a glifosato en campos agrícolas».

En la mayor parte de los estudios realizados en productos de abortos y niños con malformaciones de mujeres expuestas, se ha reportado la relación entre la exposición materna y agentes genotóxicos.

Sin embargo también debe valorarse la exposición paterna. Por lo que, al menos habría dos vías que causarían problemas reproductivos: Uno es el caso en que la exposición paterna determina la materna y el efecto opera a través de la madre, el otro ocurre cuando la exposición del hombre afecta la espermatogénesis, dando como resultado la infertilidad o el desarrollo anormal del embrión.

En el caso de exposición paterna, se ha demostrado que hay drogas que se excretan por el semen y que estas pueden ser absorbidas por vía vaginal. De esta forma entran al torrente circulatorio configurando una ruta de exposición tanto para la madre como para el embrión.

En el caso de afectación paterna, se ha postulado que los hombres serían más susceptibles a los mutágenos dada la rapidez de la división de la célula espermática, lo que facilita el evento. Si un espermatozoide portador de mutación fecunda el óvulo, existen probabilidades de que el producto de la concepción sea incompatible con la vida o presente malformaciones, dependiendo del tipo de mutación.

Un hecho que asocia la exposición a agentes tóxicos con malformaciones congénitas fue la epidemia de Minamata, debida a la ingesta de peces contaminados con metilmercurio. Este tóxico ocasionó el nacimiento de niños con serios daños en el sistema nervioso central incluyendo parálisis cerebral.

En otros estudios, realizados en España, se sugiere que el trabajo agrícola paterno aumenta el riesgo de muerte fetal por defectos congénitos, en áreas donde los plagui-

cidas son utilizados masivamente. El riesgo también aumenta para los fetos concebidos durante las épocas de uso máximo de plaguicidas.

Petrelli y colaboradores estudiaron la aparición de abortos espontáneos en esposas de aplicadores de plaguicidas, en Italia.

Estudiaron parejas de aplicadores, ocupacionalmente expuestos a plaguicidas versus parejas de comerciantes de comidas. Se encontró una relación aborto/embarazo de 0.27 en los aplicadores contra 0.07 del grupo control (comerciantes de comidas). Siendo la relación 3.8 veces mayor en el grupo de las esposas de los aplicadores.

Engel y colaboradores relacionaron la ocupación materna en agricultura y las malformaciones en brazos y piernas.

Realizaron un estudio de cohorte retrospectivo de 13 años, en Washington. Analizaron 4466 nacidos de madres expuestas, comparados con 2 grupos: 23.512 nacidos de madres nunca expuestas y 5994 nacidos en los que el padre hubiere trabajado en la agricultura. Los efectos analizados fueron sindactilia, polidactilia y adactilia.

El resultado mostró un elevado riesgo de malformaciones en el grupo expuesto con respecto a los dos grupos control.

Rojas y colaboradores en Chile, también demostraron una asociación entre la exposición ocupacional o ambiental a plaguicidas y malformaciones congénitas.

TRASTORNOS EN LA FERTILIDAD

En los últimos años se ha incrementado el interés científico por conocer la relación entre la exposición ambiental y ocupacional a tóxicos y/o contaminantes y la alteración de la calidad espermática, así como la consecuencia de éstos en la esterilidad masculina. La acción de los tóxicos puede alterar la calidad y cantidad del esperma, o afectar la función sexual por reducción de la libido, o inhibición de la erección y la eyaculación.

Por ejemplo, ya en 1977 Whorton y colaboradores publicaron un artículo en el que presentaban los resultados de un estudio realizado a trabajadores de una sección dedicada a la formulación de 1,2-dibromo-3-cloropropano (DBCP), dentro de una industria productora de plaguicidas en California. Este estudio demostró que los conductos seminales fueron el lugar de acción y la espermatogonia la célula blanco. Los trabajadores con un recuento normal de espermatozoides habían trabajado durante menos de tres meses. Por su parte, los trabajadores con azoospermia habían trabajado como mínimo tres años, y la duración media de empleo en este grupo era de 8 años. La relación causal entre la exposición laboral a DBCP y la infertilidad masculina por disminución en la producción de espermatozoides, ha sido confirmada en estudios posteriores a éste, llevados a cabo en la misma empresa y en también en otras.

También otros compuestos pueden ejercer toxicidad a través de una semejanza estructural con las hormonas esteroides reproductivas. Así, mediante su unión al receptor endócrino respectivo, las sustancias tóxicas pueden actuar como agonistas o antagonistas, alterando las respuestas biológicas.

Por otro lado, el estudio realizado por De Celis y colaboradores, comprobaron que la calidad seminal en trabajadores expuestos profesionalmente a hidrocarburos aromáticos, tales como el tolueno, xileno o benceno, se veía afectada con incremento de la tasa de anormalidades en el semen respecto a los no expuestos.

También, se ha observado una correlación entre la exposición a trazas metálicas y la función y/o producción de espermatozoides humanos estudiados principalmente en varones expuestos profesionalmente a altas concentraciones de partículas aéreas metálicas. Los primeros artículos describen que los tóxicos se asocian con un decrecimiento en la movilidad y el recuento espermáticos, y se incrementan los porcentajes de espermatozoides con anormalidades morfológicas y la esterilidad masculina.

La fertilidad de varones empleados en la industria del metal aparentemente se reduce cuando se la compara con la de los varones que trabajan en otras ocupaciones.

La integridad del ADN del espermatozoide es de vital importancia en el inicio y mantenimiento de un embarazo a término.

El estudio rutinario del semen no identifica defectos en la arquitectura de la cromatina espermática. La evaluación de la integridad del ADN en el espermatozoide, ade-

más del estudio de los parámetros sistemáticos seminales, podría aportar una información adicional acerca de la calidad del espermatozoide. Esto podría explicar los intentos fallidos en las técnicas de reproducción asistida. La infertilidad afecta al 15-20 % de las parejas, y en aproximadamente la mitad de los casos, es de origen masculino. El análisis del semen en el que se miden concentración, pH, volumen, movilidad y normalidad morfológica de los espermatozoides, y que continúa siendo la prueba clínica más importante para predecir infertilidad, no revela defectos en el espermatozoide que afecten la integridad del genoma masculino.

Existen muchas evidencias que indican una correlación negativa entre las alteraciones en la organización del material genómico del ADN del espermatozoide y su potencial de fertilización, tanto in vivo como in vitro. Esto indica que una de las características a tener en cuenta al considerar si un espermatozoide es fértil o no es la estabilidad del ADN. Los pacientes pueden tener espermogramas normales y ser infértiles, ya que el origen de la infertilidad puede estar representado por la presencia de un ADN anómalo en el espermatozoide, factor que no se mide de forma sistemática. La integridad del ADN en el espermatozoide se puede considerar como un parámetro independiente e indicativo de su calidad.

La evaluación por la aparición de problemas de descondensación de la cromatina espermática y por el porcentaje de teratospermia en las muestras de estudio, puede ser alguna de las estrategias para medir

exposición por metales y daño genético para células espermáticas.

En lo que respecta a fertilidad femenina, la funcionalidad de los ovarios, se suele valorar indirectamente a través de trastornos del ciclo menstrual, infertilidad o variaciones en las concentraciones hormonales. Por ejemplo, existen investigaciones en mujeres diagnosticadas como infértiles, con parejas fértiles, para examinar la asociación con exposiciones laborales a sustancias químicas. Estos estudios señalan una asociación entre la exposición laboral a plaguicidas y el riesgo de infertilidad femenina. Las infertilidades más frecuentemente fueron asociadas a alteraciones tubáricas (trompa de Falopio) y endometriosis.

En lo que respecta al riesgo en las células germinales, es importante tener en cuenta que el proceso de gametogénesis es diferente en los diferentes sexos y el factor de riesgo asociado con la exposición de células germinales a mutágenos químicos difiere. Las gametas masculinas son producidas en forma continua dependiendo del estilo de vida de los individuos de sexo masculino; mientras que las gametas femeninas, las ovogonias transcurren la división meiótica hasta el estado de diplotene donde quedan detenidas hasta la formación de ovocitos. La diferencia fundamental en la formación de las gametas influye la susceptibilidad de los genes masculinos y femeninos a los mutágenos. La accesibilidad de los compuestos químicos a los espermatozoides y ovocitos tiene importancia para la estimación de riesgo.

El estudio de riesgo en las células germinales puede estar incluido dentro de los siguientes componentes:

- Selección de la ruta de exposición y su impacto en todo el organismo a la dosis recibida.
- Farmacodinamia del material y el comportamiento metabólico del organismo.
- Las barreras de sangre/gónada y sus efectos en el órgano a la dosis recibida.
- Desarrollo de los datos de dosimetría para la molécula de ADN.
- Mediciones del efecto genético actual en las células del organismo.

Es importante señalar que las barreras sanguíneas/gonadales se deben tener en cuenta. Los niveles de los compuestos químicos en el torrente sanguíneo del sistema circulatorio pueden ser utilizados una aproximación en la exposición de las células somáticas, pero no son exactos para la exposición de las células germinales, donde las gónadas están protegidas de la circulación general porque poseen barreras hematogonadales. Por ejemplo: el movimiento de sustancias en la circulación de los testícu-

los dependen del tamaño molecular y el folículo del ovario es una estructura avascular.

En general, las estructuras gonadales restringen la permeabilidad de algunos compuestos extraños en las gametas. El mayor transporte de compuestos químicos depende de su solubilidad lipídica y del tamaño molecular y la penetración parece comportarse como una simple difusión. Como resultado de esta restricción del transporte, la barrera gonadal probablemente reduce el riesgo de exposición de las células germinales comparada con las células somáticas. En la mayoría de los estudios realizados, se ha determinado que las variables identificadas como factores de riesgo de malformaciones congénitas, estuvieron relacionadas con su ocurrencia y su severidad. Las lesiones en el ADN en las células germinales inmaduras pueden dañar la fertilidad y producir resultados anormales, como abortos espontáneos, enfermedades genéticas y un incremento en la incidencia de cáncer.

1. Albertini, R., D. Anderson, G. Douglas, L. Hagmar, K. Hemminki, F. Merlo, A. Natarajan, H. Norppa, D. Shuker, R. Tice, M. Waters y A. Aitio. 2000. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *International Programme on Chemical Safety. Mutation Research* 463: 111–172.
2. Albertson, D. G., C. Collins, F. McCormick y J. W. Gray. 2003. *Nature Genetics*. 34(4).
3. Andrioli, N. B. 2011. Evaluación de agentes químicos con potencial genotóxico en células meristemáticas de *Allium cepa*. Tesis Doctoral. Biblioteca Digital de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad de Buenos Aires.
4. Bonde, J. P. 1993. The risk of male subfecundity attributable to welding of metals. *Studies of semen quality, infertility, fertility, adverse pregnancy outcome and childhood malignancy. Int J Androl*. 16:1-29.
5. Calvert, G. M., W. A. Alarcon, A. Chelminski, M. S. Crowley, R. Barrett, A. Correa et al. 2007. Case Report: Three Farmworkers Who Gave Birth to Infants with Birth Defects Closely Grouped in Time and Place-Florida and North Carolina, 2004–2005. *Environ Health Perspect*. 115:787-91.
6. Caviaras, M. F. 2004. Exposición a plaguicidas y toxicidad reproductiva y del desarrollo en humanos: análisis de la evidencia epidemiológica y experimental. *Rev Méd Chile*. 132:873-79.
7. Curwin, B. D., M. J. Hein, W. T. Sanderson, M. G. Nishioka, S. J. Reynolds, E. M. Ward y M. C. Alavanja. 2005. Pesticide contamination inside farm and nonfarm homes. *J. Occup. Environ. Hyg* 2:357–367.
8. De Celis, R., A. Feria-Velasco, M. González-Unzaga, J. Torres-Calleja J. y N. Pedrón-Nuevo. 2000. Semen quality of workers occupationally exposed to hydrocarbons. *Fertil Steril*. 73:221-8.
9. Engel, L. S., E. S. O'Meara y S. M. Schwartz. 2000. Maternal occupation in agriculture and risk of limb defects in Washington State, 1980-1993. *Scan J Work Environ Health* 26(3): 193-8
10. Martínez-Frías, M.L. 2010. Estructura y función del ADN y de los genes. I Tipos de alteraciones de la función del gen por mutaciones. *SEMERGEN - Medicina de Familia*, 36 (5): 273-277.
11. Morán Martínez, J. 2012. La contaminación ambiental y ocupacional por plomo y sus efectos en la salud reproductiva masculina, evidencia de daño al ADN. *Revista Iberoamericana de las Ciencias de la Salud* 1(2).
12. Palermo, A. y M. Mudry. 2014. Etanol e isopropanol: genotoxicidad y teratogénesis evaluada aplicando el modelo de *Drosophila melanogaster*. *Acta Toxicológica Argentina* 22 (3): 122-135
13. Petrelli, G., I. Figa-Talamanca, R. Tropeano, M. Tangucci, C. Cini, S. Aquilani, L. Gasperini y P. Meli. 2000. Reproductive male-mediated risk: spontaneous abortion among wives of pesticide applicators. *Eur J Epidemiol*: 16 (4): 391-3
14. Regidor, E., E. Ronda, A. M. García y V. Domínguez. 2004. Paternal exposure to agricultural pesticides and cause specific fetal death. *Occup Environ Med*. 61:334-39.
15. Rojas, A., M. E. Ojeda y X. Barraza. 2000. Congenital malformations and pesticide exposure. *Rev Med Chil* 128(4)- 399-404
16. Silbergeld, E. K. 1998. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Volumen 1, Parte IV: herramientas y enfoques. Toxicología. Capítulo 33.
17. Smith, E. M., E. Hammonds, M. K. Ckark, H. L. Kircher y M. D. Fluortes. 1997. Occupational exposures and Risk of female infertility. *JOEM* 39,2: 138-147.

18. The Ontario College of Family Physicians. 2004. Pesticides Literature Review: systematic Review of Pesticide Human Health Effects. Toronto: Ontario College of Family Physicians.
19. Watson, R. E., J. I. Goodman. 2002. Epigenetics and DNA Methylation Come of Age in Toxicology Toxicol. Sci. 67(1): 11-16.

ENSAYOS DE CORTO PLAZO PARA LA DETECCIÓN DE AGENTES GENOTÓXICOS

Lic. Beatriz BOSCH

Departamento de Ciencias Naturales

Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales

Universidad Nacional de Río Cuarto

Como consecuencia de la industrialización y del desarrollo económico se advierte un significativo incremento en la producción, el consumo y el desecho de una amplia gama



Imagen tomada de: <http://www.teorema.com.mx/cienciaytecnologia/bajo-lupa-contaminacion-y-estres/>

de químicos sintéticos que, de una manera u otra, se distribuyen finalmente en el ambiente provocando distintas formas de contaminación: numerosas actividades humanas resultan en procesos de contaminación ambiental.

En el mismo sentido se debe considerar la gran cantidad de nuevas entidades químicas que año tras año van engrosando la lista de contaminantes ambientales, tanto en variedad como en cantidad. Por esta razón es imperativo chequear el potencial tóxico de estos xenobióticos (etimológicamente “ajenos a la vida”) sobre los sistemas biológicos y sobre los organismos no blanco

entre los que, de manera inevitable, se cuenta al hombre. Así, la contaminación se ha convertido actualmente en una de las mayores preocupaciones de muchos sectores de la

sociedad. Entre ellas se cuenta la contaminación y la exposición—ambiental o laboral — a xenobióticos con potencial genotóxico, y esto es así porque el daño en el ADN es considerado como una de las más frecuentes causas de cáncer y de muchas otras enfermedades del hombre y de otros animales.

Por otro lado es necesario considerar que, a la luz de esta realidad se revelan los avances sin precedentes en biología celular y molecular que durante las últimas décadas, han incrementado el conocimiento de diversos aspectos estructurales y funcionales del genoma y las maneras en que éste

puede ser perturbado. Estamos siendo testigos de la extraordinaria progresión de este conocimiento —y de las tecnologías sobre las que está basado— y advirtiendo su impacto en los campos de las ciencias de salud ambiental, (toxicología, ecotoxicología, toxicología ambiental, toxicología laboral, toxicológica genética) así como de los aportes que estas ciencias están realizando a la evaluación del riesgo genético de las poblaciones humanas y de organismos silvestres, como consecuencia de exposiciones ambientales de diversa naturaleza.

Últimamente es creciente el interés en el estudio de la relación entre la estructura y la función del genoma frente a los efectos biológicos adversos de agentes exógenos. De acuerdo con investigaciones recientes, entre el 70-90% de las enfermedades humanas de larga duración, latentes y crónicas, como cáncer, enfermedades cardiovasculares, Parkinson, Alzheimer, enfisema pulmonar, asma y diabetes pueden ser atribuidas a factores ambientales a través de la interacción genes-ambiente.

Tanto es así que, en los últimos años, se ha desarrollado un enfoque que introduce el concepto de **exposoma** como el complemento ambiental del genoma en el estudio de la interacción genes-ambiente. Este fue introducido en el año 2005 por Christopher Wild y representa un concepto que contempla las exposiciones complejas que enfrentan los individuos desde la concepción y durante toda su vida.

Conceptual y prácticamente, este enfoque provee una visión holística de la salud y enfermedad humanas e incluye exposicio-

nes provenientes de la dieta, de hábitos del estilo de vida, de exposiciones ocupacionales, del uso de fármacos, radiación, exposición a plaguicidas y otros tantos factores ambientales externos e internos tales como la producción celular de moléculas electrofílicas, productos diversos del metabolismo normal, estrés, infecciones, inflamación y procesos metabólicos naturales tales como alteración del microbioma intestinal. Indefectiblemente, la interfase entre el exposoma y el proteoma y entre el epigenoma y el genoma, involucra la interacción de agentes exógenos y endógenos con las estructuras metabólicas y macromoleculares que constituyen a los organismos vivos. Así, en estas exposiciones complejas, los organismos multicelulares se enfrentan a agentes genotóxicos de naturaleza diversa y no sólo exógenos, sino también endógenos. Estos agentes, operando a través de distintos mecanismos, son capaces de ocasionar daños sobre la molécula de ADN. Estos daños, que tienen como causa última un cambio en la naturaleza de la molécula, son generalmente reparados por enzimas celulares específicas.

El mantenimiento de la integridad del genoma es una tarea fundamental en la función celular y justamente, los procesos de reparación del ADN constituyen mecanismos esenciales para el mantenimiento de la integridad genómica.

Esto es así porque, en última instancia, la sobrevivencia de un organismo depende de la transmisión precisa de la información genética de una célula a sus hijas. Dicha transmisión fiel no sólo requiere una precisión extrema en la replicación del ADN y

en la distribución de los cromosomas, sino también la capacidad de sobrevivir a daños espontáneos e inducidos en el ADN y reducir al mínimo el número de mutaciones heredables. Para lograr esta fidelidad las células han desarrollado, en el curso de la evolución biológica, mecanismos de “vigilancia” que monitorean la estructura de los cromosomas y coordinan la reparación y progresión del ciclo celular en respuesta a eventos de estrés genotóxico (alteraciones severas en la homeostasis celular ocasionadas por daño en el ADN). Los sistemas de respuesta al estrés genotóxico activan vías de reparación apropiadas o en el caso de un daño irreparable, inducen apoptosis. Sin embargo puede ocurrir, en ocasiones, que el daño en el ADN se fije en la forma de mutaciones génicas o daño cromosómico. Esto puede afectar la incidencia de mutaciones heredables en determinadas líneas celulares, puede ser incluso transferido a la progenie si ocurre en la línea germinal, o conducir al desarrollo de ciertas enfermedades como el cáncer. En patologías con fenotipos variados, asociados particularmente con inestabilidad genómica, se han identificado alteraciones en genes vinculados, directa o indirectamente, con alguno de los mecanismos de reparación, como se analizó en capítulos previos.

Si bien no es objeto de este capítulo, es preciso mencionar aquí otros mecanismos que dañan la integridad del genoma, asociados con influencias ambientales. A través de estos mecanismos puede modificarse su integridad funcional: son los mecanismos epigenéticos.

La **epigenética** es el estudio de las modificaciones heredables y estables que alteran la expresión de los genes, que no pueden ser atribuidos a cambios en la secuencia del ADN y pueden afectar genes implicados en múltiples funciones. Es muy importante comprender que los aspectos estructurales y funcionales del genoma se integran en un modelo dinámico, según el cual una región estará en un estado más o menos favorable a la expresión génica (transcripción y traducción) dependiendo de la secuencia de ADN y también de las modificaciones epigenéticas a ese nivel. Éstas ocurren en el genoma sin modificar la secuencia de nucleótidos: por eso no son modificaciones genéticas, sino que están “por encima” (del griego *epi*, sobre o encima).

En los últimos años se ha comprobado experimentalmente la gran importancia que tienen los mecanismos que regulan la actividad del genoma mediante cambios “no genéticos”. De este modo, un mecanismo epigenético se entiende como un sistema complejo que selecciona la información genética que se expresará, activando y desactivando diversos genes funcionales.

Las modificaciones epigenéticas (metilación de ADN, modificación post-traducciona de histonas, silenciamiento génico mediado por ARNs no codificantes, entre otros) juegan un rol vital controlando la expresión de los genes. Estos mecanismos están implicados en la regulación de la expresión génica en general, en el desarrollo embrionario, en el silenciamiento de genes específicos durante la diferenciación celular, participan en el mantenimiento de

la estabilidad del genoma (represión de los elementos genéticos móviles, latencia de virus celulares), en la inactivación del cromosoma X, en mecanismos de impronta genómica y además podrían estar implicados en mecanismos de evolución biológica. Como se advierte, los procesos epigenéticos son fundamentales para el desarrollo y el funcionamiento de los organismos.

Sin embargo, la variación de esos mecanismos debido a factores ambientales, podría contribuir al desarrollo de enfermedades. Si bien la fisiopatología de gran parte de las enfermedades es desconocida en sus mecanismos moleculares más finos, existen evidencias de que la mayoría de los mecanismos fisiopatológicos convergerían en una interacción entre los genes y el ambiente. En este punto se hace muy evidente la importancia de poner atención sobre el exposoma.

Ahora bien, en general, cuando los organismos se exponen a agentes con potencial tóxico, sus células pueden evidenciar ciertos y determinados fenotipos celulares en respuesta al efecto del tóxico.

Habitualmente variaciones bioquímicas, histológicas y/o morfológicas, pueden ser observadas y medidas en tejidos o en muestras de fluidos corporales como consecuencia de una respuesta biológica asociada a la exposición o al efecto de uno o más agentes tóxicos. Estos fenotipos celulares medibles en organismos o células expuestas se conocen como **biomarcadores**.

Los procesos epigenéticos son fundamentales para el desarrollo y el funcionamiento de los organismos. Sin embargo, la variación de esos mecanismos debido a factores ambientales, podría contribuir al desarrollo de enfermedades.

BIOMARCADORES

En el campo de la salud humana, el desarrollo, validación y uso de biomarcadores biológicos o bioquímicos como herramientas de información para la evaluación de factores de riesgo asociados a la exposición a xenobióticos, se incrementa cada día por la necesidad de conocer acerca de

los efectos adversos generados por los diferentes entornos laborales y estilos de vida, así como en programas de monitoreo de poblaciones.

El enfoque de biomarcadores está basado en el hecho de que los tóxicos producen respuestas características en las células o en los organismos expuestos y estas respuestas pueden ser detectadas y medidas (por debajo del nivel individual) por medio de ensayos. Es decir, los biomarcadores

son definidos como indicadores cuantitativos de eventos celulares y moleculares en los sistemas biológicos. Son herramientas poderosas: proveen, por un lado, evidencia de la exposición y/o del efecto de un tóxico y por otro la posibilidad de evaluar el riesgo potencial frente a diversas exposiciones ambientales o laborales.

Los biomarcadores se han diferenciado en tres tipos.

Biomarcadores de exposición: indican la presencia de un xenobiótico, sus metabolitos o el producto de su interacción con una célula o molécula blanco.

Biomarcadores de susceptibilidad: indicadores de la capacidad o limitación (adquirida o heredada) de un organismo para responder a la exposición a un xenobiótico.

Biomarcadores de efecto: son indicadores de una alteración bioquímica, fisiológica o genética, resultado de la exposición a un xenobiótico. Así, los fenotipos celulares pueden ser usados como biomarcadores de exposición o de efecto según sea su mecanismo de origen.

Desde hace varios años, en consonancia con la creciente exposición ambiental y laboral a xenobióticos, ha ido aumentando el interés en el uso de biomarcadores de efecto genotóxico para detectar el daño ocasionado a través de la variación de respuestas celulares (fenotipos celulares). Estos biomarcadores de genotoxicidad han resultado buenos parámetros para analizar el potencial riesgo de una sustancia.

Sin embargo, es esencial contar con biomarcadores confiables y relevantes, además de mínimamente invasivos, para mejorar la implementación del biomonitoreo, diagnóstico y tratamiento de enfermedades causadas o asociadas con daño genético.

Así, en las últimas 3 décadas, han sido desarrollados, validados y ampliamente empleados muchos ensayos para cuantificar biomarcadores y evaluar la genotoxicidad de contaminantes ambientales.

Además, estos ensayos son empleados para la evaluación del potencial genotóxico de diversas sustancias producidas en la industria química, antes de su utilización o consumo, con el propósito de regular su uso

para productos alimenticios, farmacéuticos o cosméticos entre otros.

En este capítulo se hará referencia exclusivamente a los ensayos que ponen en evidencia modificaciones genéticas (no epigenéticas) en el ADN y que miden diferentes biomarcadores: se considerarán los ensayos a corto plazo.

ENSAYOS A CORTO PLAZO

En los ensayos para evaluar genotoxicidad, es posible medir biomarcadores en modelos *in vitro* (adicionando el agente en estudio a un cultivo celular) o *in vivo* (exponiendo individuos al agente en estudio y comparando los resultados con los de un grupo control no expuesto) y fueron diseñados para detectar sustancias que podrían causar daño genético directa o indirectamente por diversos mecanismos.

Asimismo, los resultados pueden obtenerse en un corto tiempo, son estos los llamados ensayos a corto plazo, o los resultados pueden obtenerse en un tiempo mayor, son los llamados ensayos a largo plazo. Estos últimos, implican estudios de por vida (o en una gran parte de la vida) en especies de animales y fueron usados tempranamente para identificar el potencial genotóxico de las sustancias. Son ensayos engorrosos y lentos, requieren una gran cantidad de instalaciones y de personal.

Sin embargo, los ensayos a corto plazo fueron desarrollados y llevados a la práctica rápidamente por las ventajas que aportó su aplicación.

Por definición, los ensayos a corto plazo en toxicología genética, detectan agentes genotóxicos no específicamente carcinógenos (más allá de la evidencia existente sobre el potencial carcinógeno de los agentes genotóxicos), ponen en evidencia y cuantifican daños en el genoma nuclear y permiten evaluar el potencial genotóxico de las sustancias. Los más ampliamente usados en programas de biomonitorio humano son el ensayo de aberraciones cromosómicas (AC), el ensayo de micronúcleos (MN), el ensayo de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y el ensayo cometa (EC).

Antes de describir el fundamento de estos ensayos y sus aplicaciones en evaluaciones de genotoxicidad, es importante hacer algunas consideraciones. Por un lado se debe tener en cuenta, que existe un nivel basal de daño genético en organismos no expuestos a agentes genotóxicos, que varía de acuerdo con ciertos parámetros poblacionales y se pone en evidencia al medir biomarcadores de genotoxicidad. Los valores basales surgen del estudio de grupos no expuestos y se utilizan como valor de referencia, al momento de estimar el daño o riesgo de un grupo expuesto. Por otro, se debe considerar la existencia de factores de confusión. Estos son circunstancias relativas a la población que se pretende estudiar y que pueden determinar la aparición de resultados falsos positivos. Para evitarlo o minimizarlo, el tamaño de cada grupo bajo estudio debe ser lo suficientemente grande como para que los posibles factores de confusión no tengan influencia indebida en los resultados. Estos incluyen: edad, sexo,

tabaquismo y las características generales de la dieta. Ciertas características son excluyentes: el consumo actual o reciente de medicamentos, la exposición a radiación y ciertas enfermedades.

Sería posible desarrollar una larga lista de factores de confusión de respuesta que hace muy difícil, en efecto, la selección de los grupos de estudio adecuados, pero se estima que con grupos de 20 o más individuos, los factores de confusión serán menos influyentes en los resultados. Asimismo deberían ser igualadas en los grupos expuestos y no expuestos ciertas características como por ejemplo el hábito de fumar o la edad.

El ensayo de AC se realiza en cultivos *in vitro* de linfocitos de sangre periférica y pone en evidencia cambios a nivel citogenético. Es útil para detectar la inducción de roturas cromosómicas (clastogénesis) en células somáticas y germinales por observación directa de células en metafase.

Las AC son variaciones en la estructura de los cromosomas que pueden ocurrir espontáneamente o como consecuencia de exposición a químicos genotóxicos o radiación, es decir, este ensayo provee información relativa a daños a nivel cromosómico (en sus versiones más clásicas: búsqueda de gaps, roturas y cromosomas dicéntricos en cultivos convencionales). Ha sido usado ampliamente en los últimos años como un biomarcador temprano de efecto genotóxico. Una frecuencia elevada de AC con respecto a los valores basales esperados, es predictivo de riesgo genético.

Si los cultivos se exponen a una determinada sustancia, se puede evaluar su poten-

cial genotóxico. Si se realiza en organismos expuestos, puede determinarse el riesgo potencial de una exposición.

El análisis de células en metafase insume mucho tiempo y requiere un entrenamiento considerable, es por esto que el desarrollo del ensayo de MN ha sido especialmente importante. Este ensayo es uno de los más comúnmente usados en evaluaciones de genotoxicidad o para biomonitorio de poblaciones en riesgo. Pone en evidencia cambios a nivel citogenético en células en interfase, tanto a nivel cromosómico (ocasionado por agentes con efecto clastogénico) como a nivel del aparato mitótico (ocasionado por agentes con efecto aneugénico). Es un ensayo simple, validado internacionalmente hace más de una década. Aunque es aplicable en diferentes tipos celulares, lo más frecuente es que se realice en linfocitos de sangre periférica en cultivo celular (ensayo de MN con bloqueo de la citocinesis) o en células de descamación de la mucosa bucal (enfoque citoma). La frecuencia de MN es considerada un biomarcador de efecto genotóxico y el incremento en la frecuencia de MN en las células es una respuesta temprana de daño cromosómico.

El ensayo de ICH, es una técnica citogenética de alta sensibilidad que evidencia un intercambio recíproco de segmentos entre las dos cromátidas hermanas de un cromosoma, identificando lesiones en el genoma que se reparen por este mecanismo.

Se observan en células en metafase mediante la tinción diferencial de las cromátidas. Muchos agentes genotóxicos inducen ICH en células cultivadas y en los mamífe-

ros, in vivo. Existe incertidumbre acerca de los mecanismos subyacentes por los cuales se forman los ICH y cómo el daño en el ADN o las perturbaciones en la replicación que estimulan su formación, pero cada intercambio entre cromátidas hermanas es la evidencia de una lesión sobre el material genético que fue o no correctamente reparada. Por esta razón, el ensayo se considera un buen indicador de la exposición a mutágenos, más que una medida de efectos mutagénicos.

Un factor clave en el diseño de todos los ensayos citogenéticos, es obtener poblaciones celulares apropiadas para el tratamiento y el posterior análisis. Los ensayos citogenéticos requieren una cuidadosa atención de las condiciones de crecimiento celular en los cultivos, uso de controles, dosis o concentraciones de exposición, condiciones del tratamiento e intervalos de tiempo entre tratamientos y muestreo de células para el análisis. La obtención de datos es una parte crítica de estos ensayos, siendo esencial que el análisis de un número suficiente de células ya que en muestras pequeñas los resultados podrían ser inconcluyentes.

El EC es un método ampliamente utilizado para medir daño en el ADN. No es un ensayo citogenético sino que detecta directamente roturas en la molécula de ADN. En este ensayo se incorporan en agarosa (en portaobjetos) células lisadas que han liberado su ADN y son sometidas a un campo electroforético. Se colorean con colorantes fluorescentes, se observan y analizan las imágenes.

Ya que los fragmentos pequeños de ADN migran más rápidamente que los fragmentos más grandes en el campo electroforético, lo que se observa es una falta de definición de fragmentos —un "cometa"—, cuando el ADN está ampliamente dañado. La extensión del daño de ADN puede estimarse a partir de la longitud y otros atributos de la “cola” del cometa. Aunque el ensayo cometa es relativamente nuevo y necesita más evaluación, parece ser un indicador sensible de daño del ADN con una amplia aplicabilidad. Es utilizado con mayor frecuencia con linfocitos humanos y otras células de mamíferos, pero se puede adaptar a diversos grupos de organismos, incluyendo plantas, moluscos, peces y anfibios. Esto justifica su creciente aplicación en toxicología genética.

El uso de biomarcadores como elementos de evaluación de riesgos para la salud, permite la identificación de factores de riesgo para la salud de los individuos y las poblaciones, selección de medicamentos, evaluación de la progresión de ciertas enfermedades y su tratamiento, desarrollo de políticas en salud ocupacional y ambiental, entre otros. El desarrollo tecnológico posibilita que los biomarcadores implementados sean cada vez más específicos y que

sean fundamentales en el desarrollo de las diferentes disciplinas biomédicas, que permiten la elaboración de las estrategias y políticas para mejorar las condiciones de vida al generar información que permite realizar acciones para disminuir la mortalidad y morbilidad en las poblaciones.

Los programas de monitoreo biológico en poblaciones humanas dependen del uso de biomarcadores (y de los ensayos para cuantificarlos) ya que son una herramienta sumamente útil para estimar el riesgo que supone la exposición a mezclas complejas de xenobióticos. Los estudios epidemiológicos asociados con los biomonitoreos permiten establecer relaciones de causa-efecto en poblaciones que habitan en condiciones de exposición ambiental y en las que se presentan ciertas patologías vinculadas con la exposición a agentes genotóxicos, descartando posibles factores de confusión en el análisis de los resultados. Estos biomonitoreos son ineludibles porque aportan datos relevantes para la salud y el desarrollo de poblaciones humanas que se encuentran en situación de riesgo potencial, dadas sus condiciones de exposición a xenobióticos, como se verá en el siguiente capítulo.

1. Aiassa, D., F. Mañas, B. Bosch, N. Gentile, N. Bernardi y N. Gorla. 2012. Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta Biol. Colomb.* 17: 485 – 510.
2. Aiassa, D., B. Bosch y F. Mañas (Comp.). 2012. Plaguicidas a la carta: daño genético y otros riesgos. Miguel Ángel Tréspidi Ediciones.
3. Aiassa, D., F. Mañas, N. Bernardi, N. Gentile, A. Méndez, D. Roma y N. Gorla. 2014. Monitoreo de genotoxicidad en personas expuestas a plaguicidas. Estudio preliminar en niños. *Revista Cuestiones de Población y Sociedad.* 4(4): 73-83.
4. Arango, S. 2012. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública.* 30(1): 75-82.
5. Bajpayee, M., A. Pandey, D. Parmar y A. Dhawan. 2005. Current Status of Short-Term Tests for Evaluation of Genotoxicity, Mutagenicity, and Carcinogenicity of Environmental Chemicals and NCEs. *Toxicology Mechanisms and Methods* 15(3):155-180
6. Bayley, K. y R. Fry. 2012. Environmental Toxicant Exposure and the Epigenome. Chapter Four. En *Advances in Molecular Toxicology.* 6:129-162.
7. Benítez-Leite, S, M. Macchi, V. Fernández, D. Franco, E. Ferro, A. Mojoli, F. Cuevas, J. Alfonso y L. Sales. 2010. Daño celular en una población infantil potencialmente expuesta a pesticidas. *Pediatr. (Asunción).* 37(2):97-106.
8. Coalova, I., S. Mencacci y A. Fassiano. 2013. Genotoxicidad de mezclas de pesticidas: ¿algo más que la suma de las partes? *Acta Toxicol. Argent.* 21 (1): 5-14.
9. Delgado-Coello, B. 2011. ¿Qué es la epigenética? *Ciencia,* enero-marzo:73-82
10. Doherty, A., A. Baumgartner y D. Anderson. 2012. Cytogenetic in vivo assays in somatic cells. *Methods Mol Biol.* 817:271-304.
11. Rodríguez Dorantes, M., N. Téllez Ascencio, M. Cerbón, M. López y A. Cervantes. 2004. Metilación del ADN: un fenómeno epigenético de importancia médica. *Rev. Invest. Clín.* 56(1):56-71.
12. Dusinska, M. y A. Collins. 2008. The comet assay in human biomonitoring: gene-environment interactions. *Mutagenesis.* 23(3):191-205
13. Fenech, M. y S. Bonassi. 2011. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. Review. *Mutagenesis.* 26(1): 43–49.
14. Hovhannisyán, G. 2010. Fluorescence in situ hybridization in combination with the comet assay and micronucleus test in genetic toxicology. *Molecular Cytogenetics - Mol Cytogenet.* 3(1):11-17.
15. Ghita Falck, G. 2014. Micronuclei in Human Peripheral Lymphocytes – Mechanistic Origin and Use as a Biomarker of Genotoxic Effects in Occupational Exposure. *People and Work Research Reports* 104, Finnish Institute of Occupational Health.
16. Go, Y. y D. Jones. 2014. Redox biology: Interface of the exposome with the proteome, epigenome and genome. *Redox Biology* 2:358–360.
17. Kirsch-Volders, M., G. Plas, A. Elhajouji, M. Lukamowicz, L. Gonzalez, K. Vande Loock e I. Decordier. 2011. The in vitro MN assay in 2011: origin and fate, biological significance, protocols, high throughput methodologies and toxicological relevance. *Archives of Toxicology.* 85(8):873-899.
18. Klaassen, C. 2013. Casarett and Doull's Toxicology The Basic Science Of Poisons. Ed. McGraw Hill

19. Lioy, P. y S. Rappaport. 2011. Exposure Science and the Exposome: An Opportunity for Coherence in the Environmental Health Sciences. 19:466-467.
20. López, S., D. Aiassa, S. Benítez Leite, R. Lajmanovich, F. Mañas, G. Poletta, N. Sánchez, F. Simoniello y A. Carrasco. 2012. Chapter Two – Pesticides Used in South American GMO-Based Agriculture: A Review of Their Effects on Humans and Animal Models. En *Advances in Molecular Toxicology*. 6:41–75.
21. Mateuca, R., I. Decordier y M. Kirsch-Volders. 2012. Cytogenetic methods in human biomonitoring: principles and uses. *Methods Mol. Biol.* 817:305-34.
22. Mudry M. y M. Carballo. 2006. *Genética Toxicológica*. Buenos Aires, Argentina: Ed. De Los 4 Vientos.
23. Nakamura, J., E. Mutlu, V. Sharma, L. Collins, W. Bodnar, R. Yu, Y. Lai, B. Moeller, K. Lu, y J. Swenberg. 2014. The endogenous exposome. *DNA Repair (Amst)*. 19:3-13.
24. Novo Villaverde, J. 2007. *Genética humana. Conceptos, Mecanismos y Aplicaciones de la Genética en el campo de la biomedicina*. Texto Multimedia Ed. Prentice-Hall.
25. Peralta, L., F. Mañas, N. Gentile, B. Bosch, A. Méndez y D. Aiassa. 2011. Evaluación del daño Genético en pobladores de Marcos Juárez expuestos a plaguicidas: estudio de un caso en Córdoba, Argentina. *Diálogos. Revista científica de psicología, ciencias sociales, humanidades y ciencias de la salud*. 2: 7-26.
26. Pérez, M., D. Dubner, S. Michelin, P. Gisona y E. Carosella. 2002. Telómeros y reparación de daño genómico: Su implicancia en patología humana. *Medicina (Buenos Aires) [online]*. 62 (6):593-603.
27. Pleil, J., M. Stiegel. 2013. Evolution of environmental exposure science: using breath-borne bio-markers for "discovery" of the human exposome. *Anal Chem*. 85(21):9984-90.
28. Vrijheid, M. et al. 2014. The Human Early-Life Exposome (HELIX): Project Rationale and Design *Environmental Health Perspectives* 122 (6):535:544.
29. Wenjuan, L., M. McNutt y Z. Wei-Guo. 2009. The comet assay: A sensitive method for detecting DNA damage in individual cells *Methods* 48:46–53
30. Wild, C. 2005. Complementing the genome with an “exposome”: the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14(8):1847–1850.

CAPÍTULO 6.

MONITOREO GENOTOXICOLÓGICO HUMANO Y AMBIENTAL

Dra. Delia AIASSA

Departamento de Ciencias Naturales

Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales

Universidad Nacional de Río Cuarto

El **monitoreo genotoxicológico** en humanos es una herramienta útil para estimar el riesgo genético de una exposición a un compuesto o mezclas complejas de productos químicos, agentes físicos y/o biológicos constituyéndose en un sistema de advertencia temprana para la prevención de enfermedades genéticas y/o cáncer. Identifica factores de riesgo a la vez que permite poner en práctica las medidas de control.

Por todo esto se constituye en una herramienta valiosa en salud pública y ambiental. Diferentes enfermedades humanas se relacionan directamente con los hábitos del estilo de vida, por la exposición a diversos agentes ambientales que constituyen un elemento determinante en la aparición y desarrollo de: carcinogénesis, teratogénesis, genotoxicidad, nefrotoxicidad, neurotoxicidad o inmunotoxicidad, entre otros.

La finalidad de monitorear poblaciones humanas y de otros animales es fundamentalmente, preservar la salud y la calidad de vida de esa población en riesgo, por la naturaleza de las sustancias a

que está expuesta ambientalmente, laboralmente, como así también terapéutica o accidentalmente expuesta a agentes físicos, químicos y biológicos.

Los principales enfoques que se utilizan para evaluar la exposición de una población humana aplican métodos indirectos y/o directos. Entre los métodos indirectos se pueden indicar: la vigilancia ambiental, el uso de la información del destino de la sustancia y de su movilidad (migración) y los modelos computadorizados (uso de cuestionarios o encuestas para residentes).

Los métodos directos comprenden el uso de equipos para la vigilancia del lugar de trabajo o de residencia de la persona y la evaluación de marcadores biológicos (biomarcadores: "medidas en los niveles molecular, bioquímico o celular, tanto en poblaciones naturales provenientes de hábitats contaminados, como en organismos expuestos experimentalmente a contaminantes, y que indican que el organismo ha estado expuesto a sustancias tóxicas y la magnitud de la respuesta del organismo al

contaminante"). El riesgo de sufrir deterioro de la salud puede ser evaluado a través del uso de biomarcadores y se expresa como la probabilidad de que un efecto no deseado ocurra como resultado de una exposición.

El uso de biomarcadores en la toxicología humana y ambiental tiene como principales objetivos medir la exposición a los agentes xenobióticos que producen enfermedades y predecir la respuesta tóxica que podría ocurrir, como se dijo en el capítulo anterior.

Un biomarcador necesariamente tiene que ser validado para ser utilizado en estudios de salud humana. La validación puede ser cumplida si el biomarcador reúne los siguientes componentes:

- * Identificación del riesgo: confirmar que el agente es capaz de causar un efecto adverso en el organismo, identificando claramente la condición clínica a evaluar.

- * Evaluación de dosis-respuesta: establecer la relación cuantitativa entre la dosis y el efecto, estableciendo que este constituye un paso relacionado con la fisiopatología de la enfermedad.

- * Evaluación de la exposición: identificar y definir el tipo de exposición que se produce, o se prevé que se produce.

- * El uso de biomarcadores debe estar enmarcado en una guía de principios que facilite su empleo en: la valoración clínica de rutina, la regulación, la adecuada evaluación, la cuantificación y la validación, teniendo en cuenta las consideraciones éticas necesarias.

- * El análisis de biomarcadores de exposición y de efecto es un instrumento clave para detectar el impacto de la contaminación sobre la salud de los ecosistemas, normalmente en combinación con otras aproximaciones para la evaluación de la calidad del medio, como los análisis químicos convencionales, otros bioensayos y los estudios ecológicos a largo plazo.

En lo que respecta a la evaluación de daño genético, si el objetivo es hacer monitoreo de personas expuestas, se pueden aplicar diferentes ensayos a corto plazo (capítulo 5).

En general, los biomarcadores de genotoxicidad evaluados a través de los ensayos a corto plazo brindan información que permite detectar un nivel de daño cuando todavía es reversible.

El ensayo de Aberraciones Cromosómicas es muy útil para el seguimiento de poblaciones expuestas, ya que permite identificar la exposición a sustancias químicas con propiedades mutagénicas y carcinogénicas mediante la evaluación de la totalidad del genoma celular. Está demostrado que, en estudios prospectivos realizados en países europeos, la mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en las personas expuestas es un buen predictor del aumento del riesgo para cáncer.

La presencia de micronúcleos y otras anomalías nucleares (enfoque citoma) está asociado a defectos genéticos en el mantenimiento del genoma, envejecimiento acelerado, daño genotóxico, y algunas enfermedades degenerativas.

La estimación o medición de la exposición se determina en líneas generales, a través de cuestionarios o encuestas, registros de empleo y evaluación de datos sobre los contaminantes ambientales para zonas en las que reside una población en estudio.

El problema que se observa en la mayoría de las comunidades, es la ausencia de datos reales, debido a que no se realiza un seguimiento de la información personal. Esto podría resultar en cálculos de la exposición que son demasiado altos o demasiado bajos. El tiempo de exposición y la cantidad de contaminantes absorbida por la persona son importantes para documentar dicha exposición.

NIÑOS Y ADULTOS

Desde el punto de vista de la exposición a contaminantes, hay dos poblaciones de interés: las poblaciones expuestas por motivos de trabajo y la población en general, y en esta última es necesario hacer la distinción entre niños y adultos.

La susceptibilidad genética y la exposición ambiental durante periodos vulnerables del desarrollo contribuyen también a la etiología de muchas enfermedades de la niñez. Entre los efectos adversos que pueden ser estudiados en los niños expuestos a varios peligros ambientales, el daño citogenético recibe una atención especial después que se ha demostrado que la frecuencia aumenta

en daño al ADN y a los cromosomas en la niñez es predictivo del desarrollo de cáncer en adultos sanos. Los niños están aún en una fase de desarrollo activo, y esta condición puede tener influencia sobre una respuesta diferente a la que tienen los adultos al daño ambiental. Los efectos del ambiente que podrían manifestarse muchos años, aun décadas después de la exposición, pueden ser monitoreados en la niñez a través de estudios citogenéticos.

Además, en los monitoreos en adultos, uno de los problemas difíciles de sortear son los efectos de los factores de confusión que interfieren en el análisis de los resultados obtenidos, como el hábito de fumar, el consumo de alcohol, el riesgo ocupacional.

Estos factores de confusión están reducidos al mínimo e incluso están ausentes en la niñez. Los monitoreos en poblaciones infantiles sí pueden incluir el estudio del efecto del humo de cigarrillo en ambientes cerrados, los niveles regionales de ozono, nanopartículas del aire, contaminantes de los alimentos como residuos de plaguicidas y compuestos generados durante la cocción de los mismos, fuentes naturales de radiación ionizante y no ionizante, contaminantes ambientales, emisiones de combustibles e hidrocarburos, las cuales pueden variar en forma importante entre las residencias rurales y urbanas. Por otro lado, los estudios de biomonitorio de mujeres han sido realizados con el objetivo de evaluar asociaciones entre exposiciones a contaminantes

(por ejemplo plaguicidas) y daño citogenético y si esta exposición es un factor de riesgo para la salud reproductiva de éstas.

MONITOREOS EN POBLACIONES HUMANAS

Las investigaciones científicas sobre monitoreo genotoxicológico humano comienzan a publicarse con frecuencia alrededor de 1985 con una escalada exponencial hasta la fecha. Desde los años 80 hasta el año 2000 el monitoreo en poblaciones humanas expuestas a productos químicos se han focalizado principalmente en estudios citogenéticos (ensayos de aberraciones cromosómicas, de micronúcleos y de intercambio de cromátidas hermanas, todos estos realizados en linfocitos de sangre periférica). Incorporándose en la última década estudios moleculares y utilizando con más frecuencia células epiteliales como de la mucosa bucal.

En este aspecto, la frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa bucal es un método mínimamente invasor, y útil para el monitoreo del daño genético en humanos.

El Human Micronucleus Project ha iniciado un proceso internacional de validación para el ensayo de micronúcleos en células de la mucosa bucal, similar al realizado previamente utilizando linfocitos humanos. Este ensayo es ampliamente utilizado y es una alternativa

eficaz, sencilla y económica para detectar la pérdida de material genético.

Por otra parte, la cavidad bucal puede reflejar el estado de salud de los individuos, debido a que la mucosa que la recubre, puede presentar evidencias a nivel microscópico como macroscópico de cambios indicativos de enfermedad local sistémica o por exposición a sustancias tóxicas así como efectos secundarios por tratamientos. Dichas características, favorecen su utilización en pruebas para evaluar genotóxicos o citotóxicos. La mucosa es una barrera protectora del resto del organismo, es un punto de contacto de agentes potencialmente peligrosos; por tanto, se torna susceptible de sufrir daños. El epitelio de revestimiento de la boca es estratificado no queratinizado formado por células con abundante citoplasma, permite la penetración de colorantes y facilita la observación e identificación de características morfológicas del núcleo y membrana celular.

Además la mucosa tiene elevada capacidad proliferativa y aunque esta particularidad mantiene la población celular constante, por otro lado, se vuelve más vulnerable a daño al ADN. Esto cobra relevancia ya que el 90% del cáncer tienen origen epitelial, así que la mucosa de la boca es usada para monitorear eventos genotóxicos tempranos causados por carcinógenos inhalados o ingeridos. Este epitelio es de fácil acceso, la toma de la muestra es poco invasivo, por lo que al tomar la muestra a los individuos, se les genera mínimo estrés.

Por todo lo anterior, el epitelio de la boca es un tejido ideal para aplicar la técnica de micronúcleos y la detección de anomalías nucleares sin necesidad de cultivos celulares, lo que representa una oportunidad para realizar estudios epidemiológicos en poblaciones de riesgo.

El ensayo de micronúcleos en células de la mucosa bucal comienza a emplearse en poblaciones expuestas a plaguicidas de Brasil, Polonia, México, España, Hungría, Costa Rica y otras poblaciones europeas, usuarios de teléfonos celulares, estudiantes fumadores de Bolivia y personas expuestas a diferentes agentes mutagénicos.

Asimismo, este ensayo fue utilizado por Peñaloza y Jaraba en niños con deficiencias alimenticias, por Benítez-Leite y colaboradores en Paraguay, Unal y colaboradores., Minicucci y colaboradores, Holland y colaboradores; y Gómez-Arroyo y colaboradores en poblaciones de niños expuestos a mezclas de plaguicidas.

Desde el punto de vista genotóxico se han valorado alrededor de 10.000 sustancias químicas y los resultados indican que cerca de 1000 son genotóxicas. También se han identificado entre estos agentes químicos a grupos capaces de interactuar en las células con macromoléculas vitales, entre los que se incluyen a los plaguicidas, medicamentos, los metales, los metaloides, los aditivos de alimentos, el tabaco, las radiaciones, los materiales dentales, el café y los derivados de la combustión incompleta de

productos energéticos, como el carbón y las gasolinas.

Con relación a los tóxicos en el ambiente (como plaguicidas y efluentes de la industria, entre otros), la evaluación del riesgo se basa en la comparación de los datos de toxicidad obtenidos en laboratorio con la exposición esperada en campo, por lo que medir el efecto que el químico produce es complejo.

Los biomarcadores en ecotoxicología pueden ser medidos también en especies centinela o en bioindicadores (aves, peces, invertebrados, en general en diferentes grupos de organismos) y es necesario realizarlo siguiendo todos los protocolos éticos de investigación. Para elucidar la acción de un tóxico ambiental es necesario el desarrollo de investigaciones multidisciplinarias para lograr el monitoreo y evaluación del riesgo generado por un contaminante, además debe estudiarse diferentes tipos de biomarcadores tendientes a evaluar el efecto temprano, la exposición y susceptibilidad.

Plaguicidas

Los estudios realizados en poblaciones expuestas a plaguicidas, en su mayoría en aplicadores europeos, informan una asociación positiva entre la exposición a una mezcla compleja de agroquímicos y el aumento de la frecuencia de aberraciones, intercambio de cromátidas, micronúcleos y/o cometas.

En América Latina a partir de 1985, se reportan 42 estudios en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas, lle-

vados a cabo en diversos países, utilizando biomarcadores citogenéticos y/o moleculares, siete de estos estudios corresponden a Argentina.

En relación a poblaciones expuestas sin motivo laboral, los niños son considerados un subgrupo específico en salud pública, porque podrían ser más sensibles que los adultos al efecto de la exposición ambiental y al tratamiento médico; además el daño al genoma producido durante la niñez puede influenciar el riesgo de aparición temprana de efectos adversos sobre la salud. Ese riesgo está determinado por las características anatómicas del niño y por la mayor expectativa de vida durante la cual se puede expresar el riesgo.

Estudios de la década del 90 en mujeres expuestas a plaguicidas con dermatitis indican que las mujeres que presentan diferentes tipos de dermatitis tienen aumentadas las frecuencias de células anormales que conllevan a citotoxicidad, genotoxicidad o ambas.

Las mujeres expuestas a plaguicidas presentan más problemas de dermatitis que el grupo no expuestas y la literatura acumula información de que las personas expuestas a plaguicidas suelen sufrir de problemas en la piel.

Medicamentos

Los biomarcadores, en la toxicología humana, proveen herramientas adicionales para el manejo clínico de los pacientes y evitar el daño causado por los tratamientos, ya que se han identificado problemas inducidos por el uso de los medicamentos.

La administración de drogas y alimentos en Estados Unidos realizó un estudio en el periodo comprendido desde 1998 a 2005 y reportó un aumento anual en el uso de medicamentos y muertes a causa de las prescripciones médicas. Algunos biomarcadores pueden identificar daños incipientes por toxicidad a nivel preclínico y clínico, además de permitir establecer la variación en los procesos de toxicidad y enfermedad que ocurre entre los diferentes individuos, lo que facilita la elección del tratamiento, y cuando existe la identificación de una predisposición genética del individuo es posible controlar la exposición y controlar la aparición de efectos secundarios.

Por ejemplo: la evaluación de la enzima glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa es altamente recomendable en personas que desarrollan hemólisis severa, antes del aplicar el tratamiento con rasburicase, una sustancia química utilizada en el tratamiento de individuos con neoplasia

En América Latina a partir de 1985, se reportan 42 estudios en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas, llevados a cabo en diversos países, utilizando biomarcadores citogenéticos y/o moleculares, siete de estos estudios corresponden a Argentina.

hematológica. La insuficiencia de la enzima es común en poblaciones con herencia mediterránea o africana.

Arsénico

La aplicación de biomarcadores ha sido utilizado para analizar el impacto subclínico sobre la salud en individuos expuestos al arsénico presente en el agua de bebida.

Un trabajo realizado dirigido por la Dra. Carballo,

se analizaron biomarcadores de efecto: citotoxicidad, mediante la evaluación del índice mitótico; citostaticidad, por medio de la cinética de proliferación celular; clastogenicidad, por el ensayo de micronúcleos en mucosa bucal, encontrando incremento de la inestabilidad cromosómica mediante la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas y daño en el material genético utilizando el ensayo cometa con respecto al grupo control mayor que la obtenida en el grupo de individuos asintomáticos.

Solventes orgánicos

Las poblaciones ocupacionalmente expuestas a solventes orgánicos han sido estudiadas ampliamente utilizando biomarcadores con el propósito de detec-

tar efectos genéticos tempranos que alertan sobre el riesgo de exposición.

El Instituto Nacional de Salud (Colombia), realizó estudios encontrando trabajadores de fábricas de pinturas de Bogotá con niveles elevados de meta-



Imagen tomada de: <http://www.cienciaenlavidriera.com.ar/2013/09/19/programa-462-importante-acuerdo-para-detectar-agua-con-arsenico-y-limitar-su-consumo/>

bolitos de solventes orgánicos en orina. Determinaron fenol, ácidos hipúrico y metilhipúrico en orina, así como las concentraciones de

hidrocarburos aromáticos en aire del lugar de trabajo y se realizó un monitoreo citogenético determinando la frecuencia de MN en linfocitos y el daño del ADN por el ensayo del cometa.

Por muchos años el biomonitoreo de exposición a solventes es realizado midiendo sus metabolitos urinarios específicos, los cuales proveen sensibilidad y especificidad para vigilancia en salud ocupacional. Junto con la evaluación de efectos genotóxicos para la identificación de riesgos y poblaciones expuestas, es posible indicar acciones que pueden ser tomadas para reducir o eliminar intoxicaciones, así como para fijar límites de exposición ambiental.

En el estudio indicado se observó que el uso de solventes orgánicos en las empresas participantes se hacía en cantidades pequeñas, sin embargo, se

olvidaba que el riesgo químico es de importancia, lo cual se refleja en el escaso uso de elementos de protección personal e insuficientes medidas de higiene y seguridad que los trabajadores tienen al manipular este tipo de sustancias en el proceso de elaboración de las pinturas. Estos factores podrían contribuir a una exposición crónica a bajas concentraciones, representando una amenaza para la salud, productividad y eficiencia de los trabajadores, considerándose así un importante problema de salud pública y detectable con estudios de genotoxicidad.

Tabaco

El estudio de la genotoxicidad del tabaco se ha abordado como consecuencia del incremento del hábito de fumar.

La exposición al humo del tabaco induce desequilibrio genómico como la formación de aductos de ADN, especies reactivas de oxígeno (EROS), rupturas en la cadena de ADN y formación de puentes en la anafase del ciclo celular.

Estudios de genotoxicidad realizados in vivo e in vitro con biomarcadores de efecto revelan mecanismos de carcinogénesis relacionados con el tabaco en fumadores activos y pasivos.

Se ha reportado que más del 90% de los cánceres son de origen epitelial y una aproximación ideal para identificar riesgo es evaluar los componentes en las células blanco carcinogénicas.

Por lo tanto, las células de la mucosa bucal son útiles para investigar directamente los efectos locales del tabaco.

En un estudio realizado en La Paz – Bolivia, se demostró que el 50 % de los estudiantes universitarios varones y



Imagen: Reuters

20% de las mujeres entre los 15 y 35 años de edad son fumadores.

Otro factor de riesgo es la altura sobre el nivel del mar, debido a que en estudios realizados se demostró que existe una disminución en la presión parcial de oxígeno, por lo tanto la hipoxia de altura y exposición a la luz ultravioleta que genera especies reactivas de oxígeno que pueden dar lugar a daño genotóxico.

En relación al daño genotóxico evaluado a través de la formación de micronúcleos en células epiteliales de la mucosa bucal, se demostró que los varones presentaban mayor número de MN que las mujeres, esto debido a que los varones fuman con mayor frecuencia durante la jornada laboral.

Por otro lado, se demostró que los estudiantes que viven a 4100 m.s.n.m. (El Ato) presentan mayor número promedio de micronúcleos en relación a los que viven a 3600 m.s.n.m (La Paz), esta

diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$), este efecto no se puede atribuir únicamente al hábito de fumar, ya que las personas están expuestas a varios agentes externos o xenobióticos, en el caso de los estudiantes de El Alto, otro factor de riesgo podría ser la exposición a los rayos ultravioleta, a productos de la combustión de naftas por el alto tráfico vehicular y otros factores.

Radiación

Las fuentes más comunes de exposición a radiaciones son las prácticas médicas (medicina diagnóstica y terapéutica), las prácticas industriales u ocupacionales, los productos de consumo, el ambiente (fuentes naturales) y las exposiciones accidentales por fugas radiactivas. Aunque los accidentes radiactivos no son frecuentes, suelen ser de consecuencias muy serias; algunos ejemplos son las exposiciones accidentales de Lilo, en Georgia; de Tokaimura, en Japón, y de Bialystock, en Polonia sin contar con las catástrofes de Chernobyl, en Rusia y la de Fukushima, en Japón, como consecuencia del terremoto de marzo de 2011.

En América Latina, entre 1962 y 2005, se han producido 32 accidentes nucleares: diez en Argentina, diez en Brasil, cuatro en México, dos en Perú y uno en Bolivia, Costa Rica, El Salvador, Puerto Rico, Panamá y Chile. El saldo ha sido de 290 personas con exposiciones significativas y 32 muertes. De estos 32 accidentes mortales, 21 están relacio-

nados con la industria y ocho con radioterapia.

No se dispone de marcadores moleculares específicos de radiación, sin embargo, algunos tipos de mutaciones y aberraciones cromosómicas como los dicéntricos, se asocian fuertemente con exposición a radiación, en particular la que produce densa ionización en su recorrido, como la radiación con alta transferencia lineal de energía (LET).

Las cromosopatías detectadas con mayor frecuencia son:

- a. Lesiones acromáticas del cromosoma o gaps (chrg),
- b. Deleciones intersticiales y terminales o roturas de cromosomas (breaks o chrb), fragmentos acéntricos (ace),
- c. Intercambios asimétricos o cromosomas dicéntricos con su correspondiente acéntrico, anillos (r),
- d. Intercambios simétricos o translocaciones recíprocas (t).

Estas lesiones cromosómicas pueden ser estables o inestables. Las estables permanecen durante mucho tiempo, de manera que son útiles para detectar exposición recibida incluso años atrás. Las inestables, por el contrario, son letales para las células, por lo tanto, van desapareciendo conforme las células se dividen. Las aberraciones de tipo inestable son los cromosomas dicéntricos, los anillos céntricos y los fragmentos

acéntricos. Las anomalías estables son las translocaciones y las inserciones.

Una alteración grave en un cromosoma plantea problemas a la célula en el momento de la división celular. Así, las células portadoras de dicéntricos van a desaparecer con el tiempo.

Las aberraciones de tipo dicéntrico, anillo y acéntricos, son “inestables”. En consecuencia, la validez de la estimación de dosis por la técnica es válida solo tras exposiciones agudas. En cambio, las inversiones y las translocaciones son aberraciones que no modifican la forma global de los cromosomas. No desaparecen después de la división, son “estables”. A causa de esta estabilidad pueden ser indicadores de exposiciones antiguas o crónicas.

Además de los cromosomas dicéntricos, se cuenta con otros indicadores biológicos para la identificación de exposición a la radiación ionizante en humanos. Estos marcadores idealmente deben ser específicos de exposición a radiación ionizante, pero muchos de los marcadores disponibles pueden ser afectados por la edad, el hábito de fumar u otras toxinas ambientales.

El ensayo de micronúcleos tiene varias ventajas con respecto a la presencia de dicéntricos, requiere menos especialización y capacitación del laboratorista, es más rápido y puede aplicarse para monitorear poblaciones grandes.

Sin embargo, es menos específico que la observación de dicéntricos, ya que los micronúcleos pueden ser inducidos por una gama de otros clastógenos, in-

cluyendo nicotina, plaguicidas, agroquímicos y otros agentes químicos.

Un estudio realizado en personal aeronáutico de flota internacional de nuestro país, mediante el análisis de la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas por bleomicina y de intercambio de cromátidas hermanas espontáneas e inducidos por estreptonigrina en linfocitos de sangre periférica., indica que el personal aeronáutico presentó en promedio una frecuencia 3,5 veces mayor de aberraciones cromosómicas (principalmente cromosomas dicéntricos) en sus linfocitos de sangre periférica que la población control estudiada. Este resultado permitió sugerir que el personal aeronáutico de flota internacional de nuestro país debería ser considerado “grupo laboralmente expuesto a la radiación”.

Metales pesados

En la actividad minera artesanal, el uso de mercurio es muy variable y depende de la cantidad de mineral extraído de los socavones.



Imagen tomada de: <http://blog.saludycalidad.com/intoxicacion-por-metales-pesados-y-el-sistema-de-desintoxicacion-del-glutation>

Generalmente, las personas que trabajan dentro de los socavones son las mismas que extraen el oro en los quimbales usando el mercurio y, por ende, están expuestos a un mayor riesgo genotóxico manifestado por un incremento en la frecuencia de micronúcleos en células epiteliales bucales. En este estudio se encontró que el uso de los elementos de protección personal en dichos trabajadores es casi nulo, razón por la cual la principal vía de ingreso es la inhalatoria. Ello debido a que el mercurio puede generar vapores a temperatura ambiental y que esta aumenta cuando se realiza los procesos de quema del amalgamado (aleación de mercurio y oro).

Otra forma de ingreso del mercurio al organismo es a través de la vía dérmica por manipulación directa del mercurio; aunque esta última en menor proporción. Los resultados del estudio sugieren que existiría asociación entre la presencia de micronúcleos, como marcador de genotoxicidad, y la exposición laboral de los mineros artesanales al mercurio. Este hallazgo es similar a otros estudios realizados, con la diferencia que se asociaron frecuencia de micronúcleos y exposición a agentes genotóxicos.

En conclusión, el hallazgo de micronúcleos en células del epitelio bucal reflejan daño genotóxico asociado a la exposición laboral por mercurio utilizado en las actividades de minería artesanal.

Materiales dentales

Casi todos los materiales usados en odontología son citotóxicos, pero como la liberación es lenta y gradual pocos producen efectos reales.

Con relación a los materiales de restauración, se sabe que el mercurio liberado de las amalgamas tiene efectos tóxicos y carcinogénicos a distancia y las resinas compuestas atrapan más placa bacteriana que los ionómeros (polímero con un ión).

Un estudio donde se evaluó la genotoxicidad de los cementos de ionómero de vidrio, demostró que este es genotóxico cuando se pone en contacto directo con cultivos de células madre (in vitro). Es importante resaltar que el efecto fue independiente del volumen.

El análisis de la toxicología celular de los monómeros dentales ha dado una nueva percepción en la interpretación de los factores de riesgo de los tejidos de la cavidad oral. Los esfuerzos hechos en el campo de la toxicología celular de los monómeros y los hallazgos futuros derivados de la biología celular pueden mejorar el conocimiento de los efectos de estos compuestos sobre los tejidos humanos.

Últimamente se ha hecho mucho énfasis en estudiar la relevancia clínica de identificar el potencial de inducir daño celular y tisular provocado por los materiales dentales y sus componentes para conocer desde un punto de vista molecular la acción de los compuestos xenobióticos que son colocados en cavidad oral por el personal odontológico,

cobra gran importancia al encontrar evidencia del daño a nivel genético que estos pueden causar.

Café

En cuanto al consumo excesivo de café (5 o más tazas) por día, también se relaciona con el aumento en las frecuencias de anormalidades nucleares que denotan citotoxicidad y apoptosis.

La citotoxicidad y mutagenicidad del café se debe a la acción oxidativa del radical hidroxilo sobre el ADN que ocasiona la oxidación de las bases nitrogenadas produciendo N-óxido adenina y 8-oxo-2-deoxiguanosina. Esto da como resultado la pérdida de bases nitrogenadas.

La habilidad de componentes fenólicos de actuar como antioxidantes o como promotores de oxidación depende de la concentración de los otros componentes implicados. Los resultados de trabajos en bebedores de café revelaron que los bajos niveles de café inhiben la peroxidación lipídica y actúan como antioxi-

dante in vitro, mientras que altos niveles de café pueden actuar de una u otra forma dependiendo del modelo usado (tipo de café, temperatura del agua, concentración presente de componentes y otros).

Bromuro de metilo

Estudios de genotoxicidad en trabajadores expuestos a bromuro de metilo señala que puede existir un comportamiento a nivel celular, que implique falta de respuesta a una exposición o respuesta disminuida. Este tipo de comportamiento se ha observado en células epiteliales de la bucofaringe expuestas a un agente tóxico y usando como biomarcador a los micronúcleos, donde la ausencia de respuesta puede deberse a que el agente genotóxico en cuestión, produce una disminución en la proliferación celular o un aumento en la citotoxicidad.

1. Aiassa, D. y N. Gorla. 2010. Prevalencia de anomalías cromosómicas en pacientes referidos para diagnóstico citogenético en la Ciudad de Río IV. *Experiencia Médica* 28(1):5-16. Argentina.
2. Aiassa, D., F. Mañas, B. Bosch, L. Peralta, N. Gentile, S. Bevilacqua, J. Gómez Miralles, S. Berrardo y N. Gorla. 2010. Los plaguicidas. Su relación con la salud humana y ambiental en la Provincia de Córdoba. *Experiencia Médica* 28(1): 39-44. ISSN 0326-7474. Disponible en http://www.experienciamedicahp.com.ar/v28n1/trabajo_original.htm
3. Aiassa, D., F. Mañas, B. Bosch, N. Gentile, N. Bernardi y N. Gorla. 2012. Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta Biológica Colombiana*. 17(3): 485-510.
4. Aiassa, D., F. Mañas, N. Bernardi, N. Gentile, Á. Méndez, D. Roma y N. Gorla. 2014. Monitoreo de Genotoxicidad en personas expuestas a plaguicidas. Estudio preliminar en niños. *Cuestiones de Población y Sociedad* 4(4): 73-84.
5. Arboleda-Moreno, Y., L. Hoyos, S. Carvajal y C. Sierra-Torres. 2004. Genotoxicidad por exposición a cigarrillos en jóvenes fumadores en Colombia. *Rev Panam Salud Pública*. 15(6):367-72.
6. Ayarde Romero, B., M. Cuti, M. E. Ascarrunz González y N. Tirado Bustillos. 2008. Efecto genotóxico del consumo de tabaco en estudiantes de la Facultad de Medicina de la UMSA que habitan en la altura. *Biofarbo*. 16:67-71
7. Beals, J. K. 1998. FDA Releases List of Genomic Biomarkers Predictive of Drug Interactions [inter-net]. New York: Medscape Medical News.
8. Benitez-Leite, S., M. Macchi., V. Fernandez, D. Franco et al. 2010. Daño Celular en una Población Infantil Potencialmente Expuesta a Plaguicidas. *Revista de Pediatría, Sociedad Paraguaya de Pediatría*. [Disponible en: http://www.spp.org.py/revistas/ed_2010/dano_celular.html]
9. Bernardi, N., N. Gentile, F. Mañas, Á. Méndez, N. Gorla y D. Aiassa. 2015. Evaluación del nivel de daño en el material genético de niños de la provincia de Córdoba, expuestos a plaguicidas. *Archivos Argentinos de Pediatría* 113(1). EN PRENSA.
10. Bolognesi, 2003. Review Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies *Mutation Research* 543, 51-272
11. Bolzán, A., M. Bianchi y J. Sánchez. 2011. Estudios de genotoxicidad de antibióticos antitumorales en células eucariotas. *Journal of Basic & Applied Genetics* 22(1): 1-6.
12. Bonassi, S. y W. W. Au. 2002. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutation Research*. 511(1):73-86.
13. Bosch, B., F. Mañas, N. Gorla y D. Aiassa. 2011. Micronucleus test in post metamorphic *Odontophrynus cordobae* and *Rhinella arenarum* (Amphibia: Anura) for environmental monitoring. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences* 3(6): 154-163.
14. Budak Diler, S., y S. Ergene. 2010. Nuclear anomalies in the buccal cells of calcite factory workers. *Genetics and Molecular Biology Online Ahead of Print*. Sociedade Brasileira de Genética. Printed in Brazil.
15. Cárdenas-Bustamante, O, M. Varona-Uribe, R. I. Patiño-Florez, H. Groot-Restrepo, D. Sicard-Suárez, M. M. Torres-Carvajal y D. Pardo-Pardo. 2007. Exposición a Solventes Orgánicos y Efectos Genotóxicos en Trabajadores de Fábricas de Pinturas en Bogotá. *Rev. Salud pública*. 9 (2): 275-288
16. Castro-Volio, I. 2013. Indicadores citogenéticos para la identificación de exposición a radiación ionizante en humanos. *Acta Méd Costarric* 55 (3): 110-117.

17. Ceppi M., B. Biasottia, M. Fenech y S. Bonassi. 2009. Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: Statistical and epidemiological issues. *Mutation Reserch* 705: 11-19. Disponible en http://www.experienciamedicahp.com.ar/v28n1/trabajo_original.htm
18. Dulout, F.N., C. A. Grillo, A. I. Seoane, C. R. Maderna et al. 1996. Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes from Andean women and children from northwestern Argentina exposed to arsenic in drinking water. *Mutation Reserch* 370: 151-158.
19. Eason, C. y K. O'Halloran. 2002. Biomarkers in toxicology versus ecological risk assessment. *Toxicology*. 181-182: 517-521.
20. Ergene, S, A. Çelik, T. Çavaş y F. Kaya 2007. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environment International* 33: 877-885.
21. Gentile, N., F. Mañas, B. Bosch, L. Peralta, N. Gorla y D. Aiassa. 2012. Micronucleus assay as a biomarker of genotoxicity in the occupational exposure to agrochemicals in rural workers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 88(6): 816-822.
22. Gómez Arroyo, S, C. Martínez-Valenzuela, S Calvo-González, R Villalobos-Pietrini et al. 2013. Assessing the genotoxic risk for mexican children who are in residential proximity to agricultural areas with intense aerial pesticide applications. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 29 (3): 217-225.
23. Goodsaid, F. M., F. Frueh y W. Mattes. 2008. Strategic paths for biomarker qualification. *Toxicology*. 245(3): 219-223
24. Hernandez Gonzalez, D., J. Mendez Silva y A. Diaz Caballero. 2014. Efectos genotóxicos de las resinas en odontología: revisión de literatura. *Av Odontostomatol [online]* 30(1).
25. Hick, A., M. G. Paczkowski, A. B. Gadano y M. A. Carballo. 2007. Biomarcadores de Genotoxicidad en Individuos Expuestos al Arsénico. *Lat. Am. J. Pharm.* 26 (5): 691-9
26. Hintzsche, H. y H. Stopper. 2010. Micronucleus frequency in buccal mucosa cells of mobile phone users. *Toxicology Letters* 193:124-130.
27. Holland, N., A. Fucic, D. F. Merlo, Radim Sram y M. Kirsch-Volders. 2011. Micronuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables, *Mutagenesis*. 26(1): 51-56.
28. Holland, N., C. Bolognesi, M. Kirsch-Volders, S. Bonassi et al. 2008. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research* 659: 93-108
29. Ilizaliturri, C., D. González, N. Pelallo, G. Domínguez, J. Mejía, A. Torres et al. 2009. Revisión de las metodologías sobre evaluación de riesgos en salud para el estudio de comunidades vulnerables en América Latina. *Interciencia*. 34(10): 710-717.
30. Lee, J. W., V. Devanarayan, Y. Barrett, R. Weiner, J. Allinson, S. Fountain et al. 2006. Fitforpurpose method development and validation for successful biomarker measurement. *Pharm. Res.* 23(2): 312-328
31. Mañas, F., L. Peralta, N. Gorla, B. Bosch y D. Aiassa 2009. Aberraciones cromosómicas en trabajadores rurales de la Provincia de Córdoba expuestos a plaguicidas. *Journal of Basic and Applied Genetics* 20(1):9-13. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-62332009000100002&lng=es
32. Mendrick, D. L. 2008. Genomic and genetic biomarkers of toxicity. *Toxicology*. 245(3): 175-181.
33. Minicucci, E. M., D. Ribeiro, B. Camargo, M. Costa et al. 2008. DNA damage in lymphocytes and buccal mucosa cells of children with malignant tumours undergoing chemotherapy. *Clin. Exp. Med.* 8:79-85.
34. Moore, T. J., M. R. Cohen y C. D. Furger. 2007. Serious adverse drug events reported to the Food and Drug Administration, 1998-2005. *Arch. Intern. Med.* 167(16): 1752-1759.

35. Neri, M., S. Bonassi, L.E. Knudsen, R. J. Sram, N. Hollandy D. Ugolini. 2006. Children's exposure to environmental pollutants and biomarkers of genetic damage. I. Overview and critical issues. *Mutation Research*. 612(1):1-13.
36. Owen, R., M. Depledge, J. Hagger, M. Jones y T. Galloway. 2008. Biomarkers and environmental risk assessment: guiding principles from the human health field. *Marine Pollution Bulletin*. 56(1): 613-619
37. Pastor Benito, S. 2002. Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas, expuestas a agroquímicos, mediante el ensayo de micronúcleos. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de ciències. Departament de Genètica i de Microbiologia. Grup de mu-tagenei.
38. Peñalosa, M., Jaraba V. Determinación del daño genético por desnutrición en niños de los centros educativos de la periferia de Pamplona, usando el ensayo de micronúcleos en células epiteliales de la mucosa bucal. *Iatreia Revista médica Universidad de Antioquia*. 2011. 23 (4)-S.
[Disponible En: <http://www.iatreia.udea.edu.co/index.php/iatreia/article/viewArticle/8149>]
39. Peralta, L., F. Mañas, N. Gentile, B. Bosch, Á. Méndez y D. Aiassa. 2011. Evaluación del daño genético en pobladores de Marcos Juárez expuestos a plaguicidas: estudio de un caso en Córdoba, Argentina. *Diálogos. Revista Científica de Psicología, Ciencias Sociales, Humanidades y Ciencias de la Salud*. UNSL. 2(1):7-26.
40. Rosales-Rimache, J., N. E. Malca, J.J. Alarcón, M. Chávez y M. A. Gonzáles. 2013. Daño genotóxico en trabajadores de minería artesanal expuestos al mercurio. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 30(4):595-600.
41. Simoniello, M. F., E. C. Kleinsorge y M. A. Carballo. 2010. Evaluación bioquímica de trabajadores rurales expuestos a plaguicidas. *Medicina (Buenos Aires)* 70: 489-498.
42. Torres-Bugarín, O. y M. L. Ramos-Ibarra. 2013. Utilidad de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *Int. J. Morphol.*, 31(2):650-657.
43. Unal, M., A. Celik, N. Aras Ates, D. Micozkadiog lu et al. 2005. Cytogenetic biomonitoring in children with chronic tonsillitis: micronucleus frequency in exfoliated buccal epithelium cells. *Int. J. Pediatric. Otorhinolaryngology*. 69: 1483-1488.
44. Zuñiga Venegas, L., C. Garbiñe Marquez Urrizola y M. Duck Palacios. 2007. Estudio citogenético y reproductivo en mujeres temporeras expuestas a pesticidas en la VIII región de Chile. *Theoria* 16(1):77-87.

CONSIDERACIONES FINALES

Después de haber expuesto alguna de las aplicaciones del biomonitoreo humano y ambiental es posible concluir que el potencial tóxico real de las sustancias que son liberadas al ambiente y que llegan a los organismos se estudian principalmente cuando se trata de medicamentos, mientras que otras sustancias de uso industrial y agrícola no son analizadas y en especial, para efectos a largo plazo.

Estudiar el efecto genotóxico de todas las sustancias que son liberadas al ambiente, es prioritario con el fin de cuidar la salud de las poblaciones humanas y del ecosistema.

El monitoreo de grupos de población expuestos a agentes potencialmente dañinos para el hombre es una herramienta valiosa en salud pública y ocupacional. Tiene como objetivo preservar la salud y la calidad de vida en aquellos grupos de trabajadores que son de alto riesgo por la naturaleza de las sustancias a que están expuestos. Es posible utilizar diferentes marcadores y técnicas de monitoreo, desde que el tóxico entra al cuerpo, cuando interacciona con su sitio de acción, en los diferentes momentos de su metabolismo, y hasta que causa enfermedad o la muerte.

INTRODUCCIÓN	5
Capítulo 1. TOXICOLOGÍA. METAS Y ALCANCES – Dr. Fernando Mañas	7
Capítulo 2. ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO – Lic. Natalí Bernardi	19
Capítulo 3. MUTACIONES y CÁNCER – Dra. Nora Gorla	29
Capítulo 4. TOXICIDAD DEL DESARROLLO – Lic. Natalia Gentile	41
Capítulo 5. ENSAYOS DE CORTO PLAZO PARA LA DETECCIÓN DE AGENTES GENOTÓXICOS – Lic. Beatriz Bosch	51
Capítulo 6. MONITOREO GENOTOXICOLÓGICO HUMANO Y AMBIENTAL – Dra. Delia Aiassa	61
CONSIDERACIONES FINALES	77

Delia Aiassa

Doctora en Ciencias Biológicas. Docente/investigadora del Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Autora de publicaciones nacionales e internacionales en citogenética, genotoxicidad y educación. Directora de proyectos de investigación, extensión y de docencia en los distintos niveles de la enseñanza. Miembro de la Sociedad latinoamericana de Genética Forense y de la Asociación de Genética Humana, Argentina.

Beatriz Bosch

Licenciada en Ciencias Biológicas. Adscripta del Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Autora de publicaciones nacionales e internacionales en citogenética, genotoxicidad y educación. Integrante de proyectos de investigación, extensión y de docencia en los distintos niveles de la enseñanza. Miembro de la Sociedad latinoamericana de Genética Forense y de la Asociación de Genética Humana, Argentina.

Fernando Mañas

Doctor en Ciencias Biológicas. Docente/investigador del Departamento de Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Autor de publicaciones nacionales e internacionales en genotoxicidad y educación. Director de proyectos de investigación.

Natalia Gentile

Licenciada en Ciencias Biológicas. Adscripta del Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Autora de publicaciones nacionales e internacionales en genotoxicidad y educación. Integrante de proyectos de investigación y de docencia en los distintos niveles de la enseñanza. Miembro de la Asociación de Genética Humana, Argentina.

Natalí Bernardi

Licenciada en Ciencias Biológicas. Adscripta del Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Autora de publicaciones nacionales e internacionales en genotoxicidad. Integrante de proyectos de investigación y de docencia en los distintos niveles de la enseñanza.

Dra. Nora Gorla

Doctora en Ciencias Biológicas. Investigadora CONICET, Docente de la Universidad Juan Agustín Maza (Mendoza). Autora de publicaciones nacionales e internacionales en genética, genotoxicidad y educación. Directora de proyectos de investigación. Miembro de la Sociedad Argentina de Genética.

Programa de Transferencia de Resultados de Investigación y Comunicación Pública de la Ciencia (PROTRI)

El Programa PROTRI de la Secretaría de Ciencia y Tecnología del Gobierno de la Provincia de Córdoba, procura identificar los resultados, experiencias o saberes transferibles generados por los grupos de investigación de las universidades, empresas o centros de ciencia y tecnología cordobeses, para promover el intercambio fructífero con otras áreas del sector social y productivo provincial, potencialmente usuarios de nuevos conocimientos y mejores prácticas, persiguiendo una mejora en la calidad de vida y un aumento de las oportunidades territoriales.

El Programa financia: ciclos de capacitación o asesoramiento, documentos de divulgación científica, guías/manuales de buenas prácticas, infografías impresas, cuadernos de experimentos, infografías digitales y videos cortos. Para postular a un subsidio, cada equipo de investigación formula su proyecto a partir de una demanda, de un compromiso específico previamente acordado con algún sector social, científico, educativo o productivo, que será finalmente el receptor de la transferencia.