

Daño genético inducido por agentes físicos y químicos

Ana María Salazar, Luis Alonso Herrera Montalvo
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

(Recibido, abril 20, 1992; aceptado, junio 26, 1992)

En las sociedades actuales, los seres humanos están expuestos a una gran cantidad de agentes físicos y químicos que potencialmente pueden interactuar con su ADN celular y producir mutaciones; es decir, cambios estructurales o numéricos en esta molécula. Si estas alteraciones se producen en células germinales existe la posibilidad de que la descendencia de los individuos afectados manifieste anomalías hereditarias. Por otro lado, si las células afectadas no son las germinales sino cualquier otra célula somática es probable que las personas directamente expuestas desarrollen algún tipo de cáncer.

Las evidencias más directas para detectar agentes ambientales con potencial mutagénico y/o carcinogénico provienen de estudios epidemiológicos. Sin embargo, este tipo de investigaciones son muy costosas y los resultados que se obtienen son retrospectivos; es decir, se observan solamente después de que las poblaciones han estado en contacto con un agente determinado. Es por esto que desde hace algunos años se han buscado sistemas biológicos que, *in vivo* o *in vitro*, sean capaces de predecir el potencial mutagénico o carcinogénico de agentes físicos y químicos a los cuales los seres humanos pueden estar expuestos accidental, ocupacional o terapéuticamente.

En esta revisión se describen dos de los parámetros más ampliamente utilizados para estos fines, los intercambios de cromátidas hermanas y las aberraciones cromosómicas. No se pretende describir la gran cantidad de información que existe al respecto, sino solamente dar una idea general del significado de estos parámetros y de su utilidad para la detección de agentes que puedan representar un riesgo para la salud humana.

1. Intercambios de cromátidas hermanas (ICHs)

El descubrimiento de los intercambios de cromátidas hermanas. Al inicio de la década de los

50 varios investigadores se impusieron la tarea de encontrar evidencia experimental de la hipótesis de Watson-Crick sobre la duplicación semiconservadora del ADN. Entre ellos, Herbert Taylor se enfocó a un programa de investigación acerca de la duplicación cromosómica y la síntesis del ADN. Taylor había decidido usar timidina marcada con un isótopo radiactivo, el tritio (^3H), el cual podía dar una buena resolución en autorradiografías de cromosomas individuales. No obstante, en aquel entonces no era posible ordenar este compuesto a algún distribuidor como se hace en la actualidad. De modo que Taylor tuvo que esperar hasta que en 1956 Walter Hughes, quien había sintetizado una buena cantidad de timidina tritiada (^3H -Tdr), se interesara en sus experimentos y le proporcionara la timidina radiactiva.

En sus primeros experimentos, Taylor incubó raíces de haba (*Vicia faba*) en una solución con ^3H -Tdr durante 8 horas y después las transfirió a una solución de colchicina para detener la distribución de las cromátidas hermanas en la metafase. Sin la separación cromatídica en anafase, el número de cromosomas se duplicaría y, en el segundo ciclo, después del marcaje con timidina, se podría saber si había una segregación del ADN marcado. Sus resultados mostraron que, en las células fijadas unas cuantas horas después de la transferencia a la colchicina, ambas cromátidas de los cromosomas estaban marcadas. Sin embargo, en las células fijadas 36 horas después del tratamiento con colchicina se observaron 24 cromosomas con una sola cromátida marcada. Esto indicaba que la segregación ocurría en la segunda división después de la incorporación. La única complicación que encontró fue que algunos segmentos de cromátidas hermanas se habían intercambiado^{1, 2}. Se había descubierto así el fenómeno de intercambio de cromátidas hermanas (Fig. 1).

Más adelante, Latt y colaboradores desarrollaron una técnica en la cual se substituyó el empleo de isótopos radiactivos con fluorocromos para la

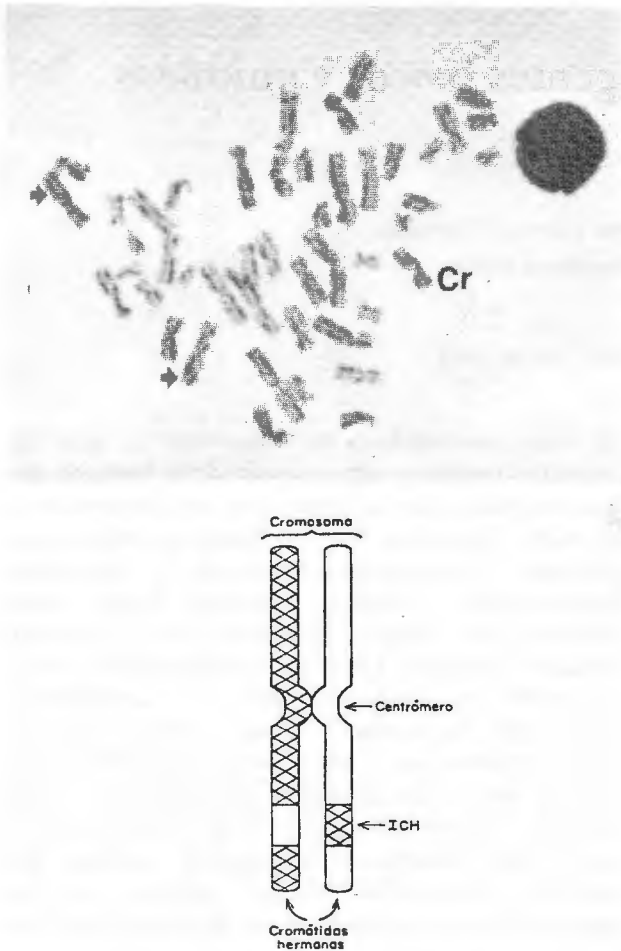


Fig. 1. Linfocito de humano en metafase (fotografía) y esquema de un cromosoma ilustrando un ICH. En la fotografía se pueden observar múltiples ICHs (flecha) en los diferentes cromosomas

detección de los ICHs³. En los experimentos iniciales se incluyeron algunas variantes como llevar a cabo autorradiografías o tinciones con Giemsa después de la sustitución con un análogo de la timina, la bromodesoxiuridina (BrdUrd), en el ADN. Estos investigadores encontraron una reducción de la tinción con Giemsa asociada a la sustitución con BrdUrd que describieron como posiblemente debida a una alteración de la fotosensibilidad de los componentes cromosómicos. Esta alteración secundaria de la tinción con Giemsa fue observada por otros investigadores y posteriormente resaltada con una exposición de las laminillas a una solución amortiguadora caliente⁴. Esta técnica, conocida también como tinción de Fluorescencia más Giemsa (FPG), facilitó el análisis de los ICHs en los laboratorios de citogenética que no contaban con equipo de microscopía de fluorescencia.

Formación de intercambios de cromátidas hermanas. Los ICHs son el resultado de un

rompimiento y la unión del ADN en sitios aparentemente homólogos de 2 cromátidas del mismo cromosoma (Fig. 1). Desde su descubrimiento, se han propuesto varias hipótesis para explicar los mecanismos de la formación de los ICHs y su significado biológico. El mecanismo de formación más aceptado hasta el momento está explicado en la hipótesis propuesta por Painter⁵. Este modelo se basa en la posibilidad de que los rompimientos de la doble hebra de ADN ocurran frecuentemente en las conexiones de zonas de duplicación o replicones adyacentes durante la duplicación⁶. Este principio está apoyado por la evidencia de que ciertas enzimas, las topoisomerasas, inducen y reúnen los rompimientos. Agentes como la mitomicina-C (MMC) y la luz ultravioleta inhiben la síntesis de ADN por bloqueo de la elongación de la cadena y sus efectos se encuentran en varios estadios de la duplicación, de modo que estos agentes, que reducen la velocidad de desplazamiento de la horquilla de duplicación, pueden generar una situación en donde existan 4 extremos libres (dos nacientes y dos paternos) de un grupo de replicones completamente duplicados y éstos pueden estar opuestos a los dos extremos libres (ambos paternos) del replicón adyacente que se encuentra parcialmente duplicado⁵. Esto conduce a la conexión entre grupos de replicones en los cuales un segmento duplicado se encuentra al lado de un segmento no duplicado.

Se sugiere que los rompimientos de la doble hebra de ADN en estas conexiones son formados y reunidos por la acción de las topoisomerasas I y II que se encuentran localizadas en las células de mamífero⁶. Ocasionalmente, en lugar de una reunión normal, el rompimiento es sellado por la reunión de hebras hijas de una molécula duplicada a la molécula no duplicada. Por lo tanto, el ICH es iniciado cuando las hebras hijas nacientes de un grupo duplicado se combinan con hebras paternas de un grupo parcialmente duplicado y el ICH se termina de formar cuando estos últimos grupos completan la duplicación. Este intercambio requiere de un solo evento: el rompimiento de la doble hebra; esto es consistente con los datos que sugieren que la formación de los ICHs es una función lineal con la dosis del agente^{7,8}.

Relevancia de los intercambios de cromátidas hermanas. Un ICH representa el rompimiento de 4 hebras de ADN (2 hélices dobles), una conexión entre las hebras de uno y otro brazos del mismo cromosoma y la reunión de las hebras en su nueva localización. La pregunta es si el rompimiento y reunificación ocurren sin producir modificaciones en el código genético. En particular, hay una gran cantidad de información con

respecto a la relación entre los ICHs inducidos y otros efectos genéticos **in vitro** e **in vivo**.

Debido a que la técnica para enumerar los ICHs es relativamente fácil, este ensayo ha sido ampliamente usado en los estudios de genética toxicológica para predecir el potencial genotóxico de un agente determinado. Se ha demostrado que la frecuencia de ICHs se incrementa dramáticamente cuando las células, o animales, incluyendo seres humanos, se exponen a mutágenos y carcinógenos conocidos⁸⁻¹⁰. En los primeros experimentos, en los cuales se utilizaron células de hámster chino expuestas en cultivo a varias sustancias, cada una de las cuales difería en el tipo de lesión al ADN que producía, se encontró que la inducción de ICHs estaba linealmente relacionada con el incremento de mutaciones en un solo gen⁷⁻¹¹. La relación entre los ICHs inducidos y la frecuencia de mutaciones difiere en cada uno de esos agentes, sugiriendo que cada tipo de lesión formada se procesa diferente en la célula, favoreciendo así la formación de ICHs, o bien, la de mutaciones. Es posible que la misma lesión sea capaz de producir tanto ICHs como una mutación y/o que las lesiones que inducen mutaciones sean un subgrupo de aquellas que forman ICHs.

En otras investigaciones se comparó la inducción de ICHs con la inducción de transformación celular **in vitro** o bien con la inducción de tumores **in vivo**. En una serie de experimentos se demostró que la inducción de ICHs estaba correlacionada positiva y directamente con la inducción de transformación **in vitro** de células de embriones de hámster sirio¹². Esta relación se encontró para 5 agentes químicos pero no para radiación X. La tasa de ICHs inducidos/frecuencia de transformación variaba con cada agente. Cheng y colaboradores, examinaron la inducción de ICHs en médula ósea de ratón, hígado en regeneración y macrófagos alveolares después de la inyección intraperitoneal de etilcarbamato y otros agentes químicos relacionados¹³. Las potencias relativas de inducción de ICHs fueron comparables con las actividades reportadas para la inducción de adenomas de pulmón en ratones. Para etilcarbamato, las dosis para la inducción significativa de ICHs en macrófagos alveolares y adenomas de pulmón fueron similares. Más aún, las pendientes de las curvas de dosis- respuesta mostraron que los dos parámetros tuvieron sensibilidad comparable.

Los resultados de los primeros trabajos en conejos demostraron que era posible medir un incremento de ICHs en linfocitos de sangre periférica muchos meses después de la exposición repetida a concentraciones

bajas de MMC **in vivo**¹⁴. También se ha observado un incremento en la frecuencia de ICHs en seres humanos fumadores¹⁵⁻¹⁶ y en individuos bajo quimioterapia¹⁵⁻¹⁷. Los resultados de estos estudios sugieren la presencia de una subpoblación de linfocitos con alta frecuencia de ICHs que puede permanecer durante largos períodos después de terminar la exposición. Estas células pueden representar un daño persistente en los linfocitos con vida media larga o en una subpoblación sensible¹⁸. Si esto es verdad, constituirían un medio más apropiado para cuantificar el daño persistente **in vivo**.

La frecuencia normal de ICHs varía dependiendo de muchos factores biológicos o técnicos, pero en general se acepta que de 6 a 12 ICHs por célula es normal. Algunos investigadores han comparado las frecuencias basales de ICHs entre hombres y mujeres y no han observado diferencias significativas¹⁸⁻²⁷. Sin embargo, existen evidencias de que en las mujeres que toman anticonceptivos orales la frecuencia de ICHs está incrementada. Por otra parte, no se han reportado variaciones de la frecuencia de ICHs relacionadas con las variaciones hormonales cíclicas de las mujeres.

En adultos se ha observado que no existe relación entre la frecuencia de ICHs en linfocitos y la edad^{18, 19, 23, 24, 27-29}. Las frecuencias de ICHs más bajas se han observado en infantes³⁰, en sangre de cordón umbilical³¹ y en niños con una edad promedio de 1.5 años³². De Arce reportó que los adultos de 30-40 años tienen un número mayor de ICHs por célula que aquéllos entre 0-10 o 60-70 años²⁵. Schmidt y Sanger encontraron un incremento significativo de ICHs con la edad cuando compararon grupos de edad de 1-18 meses, 10-13 años, 26-32 años y 63-85 años³³. Sin embargo, esto puede deberse a diferencias en la incorporación de la BrdUrd entre cultivos. Con excepción de las frecuencias basales más bajas en recién nacidos, la evidencia sugiere que las frecuencias basales de ICHs no cambian con la edad (al menos hasta los 60 años).

Algunos factores genéticos pueden desempeñar un papel en la frecuencia basal de ICHs. Cuando Cohen y colaboradores compararon las frecuencias de ICHs, tanto entre 12 grupos familiares como dentro de cada uno de ellos (2 generaciones), encontraron diferencias entre, pero no dentro de, las familias, sugiriendo una contribución genética a la basal de ICHs³⁴. Sin embargo, Pedersen y colaboradores, que examinaron cultivos de linfocitos de 11 gemelos monocigotos y 9 dicigotos, del mismo sexo en ambos casos, no encontraron diferencias significativas en la frecuencia basal de ICHs entre monocigotos **versus** dicigotos y

concluyeron que los factores genéticos no juegan un papel importante en la frecuencia de ICHs³⁵. Waksvik y colaboradores tampoco encontraron ninguna contribución genética en la frecuencia basal de ICHs en sus estudios con gemelos²⁶. Para determinar si las frecuencias basales de ICHs están relacionadas con el origen étnico, se midieron las frecuencias de ICHs en adultos de ambos sexos, sin antecedentes familiares interraciales, de caucásicos, negros americanos, orientales, y razas nativas de América³⁶. No hubo diferencia significativa en las frecuencias promedio entre las cuatro razas.

Ciertas evidencias sugieren la existencia de individuos más susceptibles a la acción mutagénica de determinados agentes químicos. Esta hipersusceptibilidad puede ser fácilmente observada en células de pacientes con síndrome de Bloom tratadas con agentes alquilantes³⁷, con **Xeroderma pigmentosum** expuestos a luz ultravioleta, o en linfocitos de pacientes con anemia de Fanconi tratados con MMC³⁸. Estas variaciones en la sensibilidad a agentes químicos se han encontrado también en células de personas normales tratadas *in vitro* con antiparasitarios³⁹. Aunque en el caso de los pacientes con **Xeroderma pigmentosum** se sabe que sus células son deficientes en la reparación del daño al ADN originado por la luz ultravioleta, y que ésta pudiera ser la explicación a su alta sensibilidad a este agente, las causas de las diferencias en la susceptibilidad a agentes mutagénicos en personas aparentemente normales no han sido aún aclaradas. Se ha propuesto que pudieran estar relacionadas con la farmacocinética del agente químico en cada individuo³⁹.

La influencia potencial de otros factores sobre las frecuencias de ICHs en seres humanos es digna de considerarse. Debido a que un gran número de mujeres utilizan anticonceptivos orales, esto se debe tomar en cuenta para que no se interprete como efectos de otros agentes. En un estudio con mujeres que utilizaban anticonceptivos se demostró un incremento significativo en la frecuencia de ICHs en linfocitos asociado con la ingesta diaria de norgestrel o etinilestradiol por períodos de 6-24 meses⁴⁰.

A pesar del conocimiento que se tiene acerca de los mutágenos naturales que se encuentran en la comida, así como del papel que desempeña el procesado de alimentos en la producción de mutágenos^{41, 42}, se ha puesto poca atención al papel de la dieta sobre las variaciones de la basal de ICHs. Se ha informado que la desnutrición protéico-calórica severa en niños está asociada con un incremento en las frecuencias de

ICHs en linfocitos⁴². Después de la rehabilitación nutricional, las frecuencias de ICHs decrecieron. También se ha reportado una mayor frecuencia de ICHs en alcohólicos crónicos⁴³.

El tabaquismo es, quizás, el factor de confusión más importante en la interpretación de las frecuencias de ICHs en humanos. En su mayor parte, las evidencias indican que los individuos que fuman tienen una frecuencia de ICHs elevada^{15, 27, 31, 44}. Sin embargo, este efecto no se observa en todos los estudios^{28, 45}.

2. Aberraciones cromosómicas

Las aberraciones cromosómicas inducidas por agentes físicos o químicos pueden estudiarse en cualquier población celular en ciclo, o en cualquier población celular que no esté en ciclo pero que pueda ser estimulada por un agente mitogénico para entrar en ciclo. En plantas y animales hay varios tipos celulares que cumplen estos criterios, pero para estudios en seres humanos sólo se dispone de dos tipos de células a las que se puede tener acceso de una manera práctica. Estas son las células de médula ósea, las cuales son una población en ciclo, y los linfocitos de sangre periférica, los cuales normalmente no se están dividiendo, pero cuya división puede ser estimulada *in vitro* cultivándolos con un mitógeno como la fitohemaglutinina (PHA). Debido a la fácil obtención de una muestra de sangre, en contraste con las muestras de médula ósea, el ensayo con linfocitos ha sido utilizado en la mayoría de los estudios sobre inducción de aberraciones cromosómicas en seres humanos.

Desde la observación de Moorhead y colaboradores, de que los linfocitos podían estimularse con PHA y observarse en metafase⁴⁶, se ha obtenido una gran cantidad de datos sobre la inducción de alteraciones por radiación y agentes químicos utilizando este sistema⁴⁷. Se asume que este ensayo es simple y útil para el monitoreo en seres humanos, y que da información sobre exposiciones potencialmente clastogénicas (o mutagénicas). Sin embargo, se debe hacer énfasis en que tal observación debe ser tomada en cuenta con cautela en el caso de supuestas exposiciones a agentes químicos.

Clasificación de las aberraciones cromosómicas. Existen varios esquemas para la clasificación de las aberraciones cromosómicas^{48, 49}. Sin embargo, sólo son cuatro los criterios que se han tomado en cuenta en cualquiera de estas clasificaciones: (a) estado de duplicación del ADN en el momento de producirse el daño. Si éste se produjo antes de la síntesis de ADN

se observarán aberraciones que incluyan ambas cromátidas de los cromosomas, o aberraciones que involucren sólo una cromátida (cromatídicas) si el daño se produjo después de la síntesis del ADN; (b) la disposición de los rompimientos también debe considerarse. Si hay dos o más rompimientos en el mismo cromosoma se denominan intracambios, y si se encuentran en cromosomas diferentes se les llama intercambios; (c) en ocasiones, después de ocurrir un rompimiento, los extremos de los cromosomas rotos pueden unirse con otro cromosoma; si esta unión produce fragmentos sin centrómero se denominan aberraciones simétricas, mientras que si no se producen estos fragmentos ni problemas mecánicos durante la división mitótica siguiente se les llama asimétricas; y (d) las uniones entre las partes afectadas de uno o varios cromosomas pueden ser completas o incompletas.

Efectos de la radiación sobre el material genético.

Desde que Müller, a principios de siglo, describiera la acción mutagénica de la radiación, el estudio de estos efectos ha sido motivo de múltiples investigaciones. En este trabajo se mencionarán los detalles más relevantes de algunos estudios encaminados a caracterizar el tipo de daño cromosómico inducido por diferentes tipos de radiación. Es importante señalar que los primeros trabajos que se llevaron a cabo para estudiar los efectos biológicos de la radiación se realizaron con células vegetales (en varias especies del género *Tradescantia*) y sentaron muchas de las bases para poder comparar los resultados entre varios laboratorios con el objetivo de construir gráficas que ilustren las dosis biológicamente importantes^{50, 51}. Antes de continuar es necesario poner en claro varios conceptos útiles para el entendimiento de lo que se describe posteriormente.

i. Tipos de radiación: a) radiación ionizante: producida por fotones o partículas y que puede ser de alta o baja transferencia lineal de energía (LET); es decir que se depositen grandes o pequeñas cantidades de energía en un medio por unidad de longitud. Las radiaciones de baja LET (que depositan menos de 1 KeV por micrómetro) son producidas por electrones, por rayos X o por rayos gama, que a su vez producen electrones después de entrar en contacto con un medio. El daño cromosómico inducido por este tipo de radiaciones está constituido principalmente por rompimientos y, en su mayoría, este daño (2/3 del daño total) es inducido por la acción de los radicales libres formados por la ionización de moléculas de agua. Las radiaciones ionizantes de alta LET (que depositan más de 1 KeV de energía en un medio por micrómetro) se producen primordialmente por

partículas como protones, neutrones o iones pesados⁵²; el daño que causan este tipo de radiaciones está constituido por rearrreglos cromosómicos complejos. b) radiación no ionizante: las ondas de radio, las electromagnéticas y algunos tipos de luz ultravioleta son algunas de las radiaciones no ionizantes a las que el hombre puede estar expuesto. Los efectos genéticos de las dos primeras están siendo determinados en la actualidad, mientras que se ha relacionado la inducción de cáncer de piel y el daño que produce la luz ultravioleta en el ADN. Este daño es muy similar al generado por la exposición a agentes químicos. La formación de dímeros de timina es la lesión más comúnmente inducida por la luz ultravioleta y, por lo general, estas lesiones son eliminadas por la célula a través de mecanismos de reparación por excisión. Si las células expuestas no son eficientes en este tipo de reparación, el daño al ADN permanecerá y la célula sufrirá alteraciones considerables. Esto es lo que ocurre en las células de pacientes con *Xeroderma pigmentosum*.

ii. Dosimetría de la radiación. Muchos de los trabajos realizados con *Tradescantia* se hicieron con radiaciones de baja LET, especialmente con rayos X. Sin embargo, las primeras máquinas de rayos X fluctuaban en la radiación que emitían durante una exposición, siendo difícil comparar los resultados de esos primeros estudios con los obtenidos actualmente. En un principio se utilizaba el roentgen como unidad de exposición a radiación de material biológico, la misma unidad que se usaba para medir la ionización en el aire de los rayos X de voltaje medio; sin embargo, los efectos biológicos surgen principalmente como resultado de la dosis absorbida por el tejido irradiado, la cual es mayor que la encontrada en el aire. La unidad actual de la dosis de radiación absorbida por cualquier tipo de tejido es el rad y se define como un depósito de energía de 0.001 J/kg. La medición e interpretación de la dosis de radiaciones de alta LET en términos biológicos representa un problema más complicado. Actualmente se utiliza al rad como unidad para ambos tipos de radiación, o al gray el cual equivale a 100 rads.

Aberraciones inducidas por radiación y la estimación de la exposición. La radiación ionizante es capaz de producir aberraciones en todos los estadios del ciclo celular, incluyendo aberraciones del tipo cromosómico en G1 y aberraciones de tipo cromatídico en S y G2. Los linfocitos de sangre periférica, de los cuales una subpoblación se estimula mitogénicamente cuando las muestras de sangre se cultivan, son esencialmente no cíclicos y están en la fase G0 del ciclo celular. El término se aplica por lo

general a las células no ciclantes en G1. Así, después de la exposición a radiación, se inducirán aberraciones cromosómicas en los linfocitos no ciclantes en G1, que podrán observarse en la primera metafase después de la estimulación mitogénica en cultivo. El hecho de que se puedan producir aberraciones en células en G1 significa que su frecuencia puede relacionarse directamente con la dosis recibida (v.g. la frecuencia de aberraciones es proporcional a la dosis). Además, para muchas especies, incluyendo al hombre, se ha mostrado que la frecuencia de aberraciones inducidas *in vitro* es la misma que la frecuencia inducida por la misma dosis *in vivo*⁵³⁻⁵⁶. Esto significa que puede obtenerse una curva dosis-respuesta estándar para cualquier tipo de radiación con exposiciones *in vitro* y usarse para estimar las dosis recibidas por individuos como resultado de accidentes durante exposiciones médicas o ambientales. La frecuencia de aberraciones (usualmente representadas por cromosomas con dos centrómeros o dicéntricos) se mide en cultivos de sangre de individuos expuestos y se obtiene una dosis estimada a partir de la curva estándar dosis-respuesta. La utilidad del linfocito como un sistema biológico para medir la dosis de diferentes tipos de radiación está ampliamente documentada^{57,58}.

Para poder analizar y estimar el daño en mitosis es necesario estimular a los linfocitos de sangre periférica con PHA y cultivarlos por varios días. Posteriormente se cuantifica el número de cromosomas dicéntricos. Sin embargo, existen ciertas limitaciones con esta metodología: 1) la relación dosis-respuesta no puede establecerse directamente, ya que siempre hay un período entre la irradiación y la división celular donde los cromosomas son analizados; 2) las curvas dosis-respuesta obtenidas corresponden sólo a aquellos linfocitos que llegaron a mitosis; 3) algunas de las células más afectadas pueden morir durante la incubación, mientras que otras, por efecto de la radiación, retardan su ciclo y no alcanzan la mitosis en el momento de la fijación⁵⁹; 4) debido a que durante las divisiones posteriores a la irradiación aproximadamente el 50% de los cromosomas dicéntricos y el 20% de los acéntricos se pierden⁵⁹, los datos obtenidos de esta forma pueden subestimar el efecto inicial. Pantelias y Maillie han sugerido analizar el daño inducido por radiación a través de la enumeración de fragmentos cromosómicos encontrados en linfocitos no estimulados y fusionados con células en metafase como un sistema alternativo para la dosimetría de la exposición a la radiación⁶⁰. Al fusionar células en interfase con células en metafase se produce un fenómeno conocido como condensación prematura de la cromatina (PCC), siendo posible

determinar la fase del ciclo celular en la cual se encuentra la célula⁶¹.

Se han tomado muestras de pacientes con espondilitis anquilosante tratados con radiación varios años después de la exposición⁶², así como de personas expuestas a las bombas atómicas en Hiroshima y Nagasaki⁶³. El hecho de que algunos linfocitos tengan una vida media muy prolongada, más de 20 años⁶²⁻⁶³, significa que las aberraciones inducidas por radiación pueden ser todavía observadas en las células que estaban presentes como linfocitos periféricos en el momento de la exposición. Si se asume que la frecuencia de aberraciones declina exponencialmente con el tiempo, se puede hacer una estimación aproximada de la dosis recibida.

Aberraciones inducidas químicamente y estimación de su exposición. Los mutágenos químicos pueden dividirse tentativamente en directos, cuando ejercen sus efectos sin sufrir ninguna modificación en su estructura química, e indirectos, cuando necesitan de la activación metabólica para poder causar sus efectos.

Los datos disponibles indican que los ICHs pueden ser un indicador sensible para la detección de mutágenos directos. Sin embargo, el mecanismo de formación de ICHs parece ser diferente al de las aberraciones cromosómicas, además de ser independientes uno del otro. Con base en esto, se pueden reconocer dos tipos de mutágenos directos, unos que pueden inducir ICHs pero no aberraciones cromosómicas y otros que no inducen ICHs pero sí aberraciones. En ambos casos la dosis es un factor importante, ya que para la inducción de ICHs la dosis de un agente químico es casi siempre más baja que para inducir aberraciones cromosómicas.

En 1977, Kato agrupó a los agentes químicos en 3 categorías dependiendo de su eficiencia para inducir ICHs y aberraciones cromosómicas⁶⁴. Un primer grupo incluye a los agentes parecidos a los rayos X, cuyo efecto no depende de la fase de síntesis de ADN, y en los cuales el incremento en la frecuencia de ICHs es mínimo a pesar de su habilidad para producir aberraciones cromosómicas (bleomicina); una segunda categoría que agrupa a los agentes llamados tipo UV, que son capaces de inducir ICHs y aberraciones cromosómicas (MMC y la gran mayoría de los agentes alquilantes); en el tercer grupo se encuentran agentes inhibidores de procesos metabólicos, cuyos efectos sobre la estructura del ADN son indirectos (hidroxiurea, metotrexate).

Con base en la utilidad del sistema del linfocito para la estimación de exposición a radiación, parecía

apropiado analizar aberraciones cromosómicas en muestras de sangre de individuos expuestos ocupacionalmente a agentes químicos, o a mezclas complejas de éstos, para determinar si había habido exposición a un clastógeno y para correlacionar las frecuencias de aberraciones con la dosis de la substancia. Sin embargo, la estimación de dosis a partir de aberraciones en poblaciones expuestas a mutágenos químicos no es confiable.

La baja sensibilidad de los ensayos actuales para medir la frecuencia de aberraciones cromosómicas después de una exposición a agentes químicos se debe a los mecanismos de inducción de aberraciones por esos agentes. Éstos mecanismos pueden dar como resultado la inducción de frecuencias de aberraciones indirectamente relacionadas con la dosis, en contraste con las aberraciones inducidas por radiación.

Las aberraciones cromosómicas inducidas por tratamientos químicos son producidas casi exclusivamente durante la fase S, sin importar la fase del ciclo celular durante la cual se realizó el tratamiento. Así, la mayoría de las aberraciones serán de tipo cromatídico, aunque hay excepciones a esta hipótesis general^{65, 66}. Por lo tanto, es más apropiado considerar que la probabilidad para producir aberraciones en células en G1 o en G2 después de un tratamiento con agentes químicos es baja, pero se incrementa considerablemente cuando las células tratadas están en, o pasan por, la fase S.

El daño al ADN inducido por agentes químicos en linfocitos no ciclantes no se convertirá en aberraciones hasta que las células sean estimuladas a entrar en ciclo *in vitro* y empezar la duplicación del ADN. Dado que el daño al ADN puede ser reparado en las células en G0, así como durante el largo primer estadio de G1, la frecuencia de aberraciones no será necesariamente proporcional a la cantidad de daño inducido al ADN, sino más bien a la cantidad de daño que se mantiene en el momento de la duplicación. Queda claro que la cantidad de daño al ADN presente en el momento de la duplicación, el cual tiene el potencial de transformarse en aberraciones, dependerá de diversos factores: (a) la dosis recibida; (b) la cantidad inducida de los tipos de daño al ADN que puede originar

aberraciones (un valor que puede variar con el agente); (c) la cantidad de reparación en las células en G0 antes del muestreo; y (d) la cantidad de reparación en células en G1 a partir de la estimulación mitogénica hasta la primera fase S *in vitro*. Muchos de estos puntos también estarán sujetos a variaciones individuales. El resultado es que, para la mayoría de los agentes químicos, sólo una proporción del daño inducido al ADN efectivamente se convierte en aberraciones en el momento de la duplicación. Estos factores de reparación del ADN reducen la sensibilidad del linfocito para la medición de exposición a agentes químicos, lo que originará una frecuencia de aberraciones que, en el mejor de los casos, es sólo indirectamente proporcional a la exposición.

Si se observa un incremento en las aberraciones cromosómicas en grupos potencialmente expuestos, comparados con grupos control, se puede concluir que ha ocurrido una exposición a un agente clastogénico, pero no se estima el nivel de exposición o de los efectos adversos subsecuentes (genéticos o somáticos). Por otra parte, si no hay diferencias en la frecuencia de aberraciones entre los grupos expuestos y sus grupos control asociados no es posible detectar una exposición. Sin embargo, en este caso, puede ser posible, con base en experiencias previas, deducir un nivel de exposición máximo, el cual no está asociado con una diferencia detectable en la frecuencia de aberraciones.

Conclusiones. La exposición a contaminantes ambientales, medicamentos y aditivos alimenticios daña el genoma. Se considera que este daño puede ser causa de padecimientos hereditarios, malformaciones congénitas, cáncer, diabetes y arterioesclerosis, entre otros. Sin embargo, es indispensable profundizar en las investigaciones y encontrar evidencia más categórica al respecto. Por otro lado, es necesario perfeccionar procedimientos y estrategias que permitan tanto la detección oportuna de los agentes con potencial mutagénico como a los individuos más susceptibles a su efecto. Ello determinará las acciones específicas para prevenir las enfermedades genéticas.

REFERENCIAS:

- 1- Taylor JH, Woods PW, Hughes WL. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1957; 43: 122-138.
- 2- Taylor JH. Distribution of tritium-labeled DNA among chromosomes during meiosis. I. Spermatogenesis in grasshopper. *J Cell Biol* 1965; 25: 57.
- 3- Latt SA, Shereck J, D'Andrea A, Kaiser T, Schlesinger F, Lester S, Sakai K. Detection, significance and mechanism of sister chromatid exchange formation: Past experiments, current concepts, future challenges. En: Tice R, Hollaender A, eds. *Sister chromatid exchanges, 25 years of experimental research*. New York: Plenum Press, 1984: 11-40.
- 4- Perry P, Wolff S. New Giemsa method for the differential staining of sister-chromatids. *Nature (Lond.)* 1974; 251: 156-158.
- 5- Painter RB. A replication model for sister-chromatid exchange. *Mutat Res* 1980; 70: 337-341.
- 6- Liu LF, Liu CC, Alberts BA. Type II DNA topoisomerases: Enzymes which unknot a topologically knotted DNA molecule via a reversible double strand break. *Cell* 1980; 19: 697.
- 7- Carrano AV, Thompson LH, Lindl PA, Minkler JL. Sister-chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis. *Nature (Lond.)* 1978; 271: 551-553.
- 8- Perry P, Evans HJ. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister-chromatid exchange. *Nature (Lond.)* 1975; 258: 121-125.
- 9- Latt SA, Allen J, Bloom SE, Carrano A, Falke E, Kram D, Schneider E, Schreck R, Tice R, Whitfield B, Wolff S. Sister-chromatid exchanges: a report of the Gene-Tox program. *Mutat Res* 1981; 87: 17-62.
- 10- Lambert B, Lindblad A, Holmberg L, Francesconi D. The use of sister-chromatid exchange to monitor human populations for exposure to toxicologically harmful agents. En: Wolff S, ed. *Sister-chromatid exchange*. New York: John Wiley and Sons, 1982: 149-182.
- 11- Carrano AV, Thompson LH. Sister-chromatid exchange and gene mutation. *Cytogenet Cell Genet* 1982; 33: 57-61.
- 12- Popescu NC, Amsbaugh SC, DiPaolo JA. Relationship of carcinogen-induced sister-chromatid exchange and neoplastic cell transformation. *Int J Cancer* 1981; 28: 71-77.
- 13- Cheng M, Conner MK, Alaire Y. Potency of some carbamates as multiple tissue sister-chromatid exchange inducers and comparison with known carcinogenic activities. *Cancer Res* 1981; 41: 4489-4492.
- 14- Stetka DG, Minkler JL, Carrano AV. Induction of long-lived chromosome damage, as manifested by sister-chromatid exchange in lymphocytes of animals exposed to mitomycin-C. *Mutat Res* 1978; 51: 383-396.
- 15- Lambert B, Ringborg U, Harper E, Lindblad A. Sister-chromatid exchanges in lymphocyte cultures of patients receiving chemotherapy for malignant disorders. *Cancer Treat Rep* 1978; 62: 1413-1419.
- 16- Carrano AV. Sister-chromatid exchange as an indicator of human exposure. En: Bridges BA, Butterworth BE, Weinstein IB, eds. *Indicators of genotoxic exposure*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982: 307-318.
- 17- Musilova J, Michalova K, Urban J. Sister-chromatid exchanges and chromosomal breakage in patients treated with cytostatics. *Mutat Res* 1979; 67: 289-294.
- 18- Carrano AV, Moore DH. The rationale and methodology for quantifying sister-chromatid exchange in humans. En: Heddle JA, ed. *Mutagenicity: new horizons in genetic toxicology*. New York: Academic Press, 1982: 267-304.
- 19- Galloway SM, Evans HJ. Sister-chromatid exchanges in human chromosomes from normal individuals and patients with ataxia telangiectasia. *Cytogenet Cell Genet* 1975; 15: 17-29.
- 20- Alhadeff B, Cohen MM. Frequency and distribution of sister-chromatid exchanges in human peripheral lymphocytes. *Isr J med Sci* 1976; 12: 1440-1447.
- 21- Crossen PE, Drets ME, Arrighi FE, Johnston DA. Analysis of the frequency and distribution of sister-chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *Hum Genet* 1977; 35: 345-352.
- 22- Latt SA, Juergens LA. Determinants of sister-chromatid exchange frequencies in human chromosomes. En: Hook EB, Porter IH, eds. *Population cytogenetics: studies in humans*. New York: Academic Press, 1977: 217-236.
- 23- Morgan WF, Crossen PE. The incidence of sister-chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *Mutat Res* 1977; 42: 305-312.
- 24- Cheng W, Mulvihill JJ, Greene MH, Pickle LW, Tsai S, Whang-Peng J. Sister-chromatid exchanges and chromosomes in chronic myelogenous leukaemia and cancer families. *Int J Cancer* 1979; 23: 8-13.
- 25- De Arce MA. The effect of donor sex and age on the number of sister-chromatid exchanges in human lymphocytes growing in vitro. *Hum Genet* 1981; 57: 83-85.
- 26- Waksvik H, Magnus P, Berg K. Effects of age, sex, and genes on sister-chromatid exchange. *Clin Genet* 1981; 20: 449-454.
- 27- Livingston GK, Cannon LA, Bishop DT, Johnson P, Fineman RM. Sister-chromatid exchanges: variation by age, sex, smoking, and breast cancer status. *Cancer Genet Cytogenet* 1983; 8: 289-299.
- 28- Hollander DH, Tockman MS, Liang YW, Borgaonkar DS, Frost JK. Sister-chromatid exchanges in the peripheral blood of cigarette smokers and in lung cancer patients and the effect of chemotherapy. *Hum Genet* 1978; 44: 165-171.
- 29- Lambert B, Lindblad A. Sister chromatid exchange and chromosome aberrations in lymphocytes of laboratory personnel. *J Toxicol Environ Health* 1980; 6: 1237-1243.
- 30- Seshadri R, Baker E, Sutherland GR. Sister-chromatid exchange (SCE) analysis in mothers exposed to DNA-damaging agents and their newborn infants. *Mutat Res* 1982; 97: 139-146.
- 31- Ardito G, Lamberti L, Ansaldi E, Ponzetto P. Sister-chromatid exchanges in cigarette-smoking human females and their newborns. *Mutat Res* 1980; 78: 209-212.
- 32- Husgafvel-Pursiainen K, Maki-Paakkanen J, Norppa H, Sorsa M. Smoking and sister-chromatid exchange. *Hereditas* 1980; 92: 247-250.
- 33- Schmidt MA, Sanger WG. Sister-chromatid exchange in aged human lymphocytes. A brief note. *Mech Aging Dev* 1981; 16: 67-70.

- 34- Cohen MM, Martin AO, Ober C, Simpson SJ. A family study of spontaneous sister-chromatid exchange frequency. *Am J Hum Genet* 1982; 34: 294-306.
- 35- Pedersen C, Olah E, Merrild U. Sister-chromatid exchanges in cultured peripheral lymphocytes from twins. *Hum Genet* 1979; 52: 281-294.
- 36- Butler MG. Sister-chromatid exchange in 4 human races. *Mutat Res* 1981; 91: 377-379.
- 37- Shiraishi Y. Analysis of sister chromatid exchanges in Bloom syndrome by use of endomitotic and three-way differentiation procedures. En: Tice R, Hollaender A, eds. *Sister chromatid exchanges, 25 years of experimental research*. New York: Plenum Press, 1984: 729-740.
- 38- Latt SA. Sister chromatid exchange: New methods for detection. En: Wolff S, ed. *Sister chromatid exchange*. New York: John Wiley and Sons, 1982: 17-40.
- 39- Ostrosky-Wegman P, García G, Montero R, Pérez Romero B, Alvarez Chacón R, Cortinas de Nava C. Susceptibility to genotoxic effects of nitrosamide in human peripheral lymphocytes exposed in vitro and in vivo. *Mutat Res* 1986, 173: 81-87.
- 40- Balakrishna-Murthy P, Bhaskaram P, Srikantia SG. Sister-chromatid exchanges in protein-energy malnutrition. *Hum Genet* 1980; 55: 405-406.
- 41- Nagao M, Sugimura T. Mutacarcinogens in ordinarily cooked foods. En: Schoental R, Connors TA, eds. *Dietary influences on cancer: traditional and modern*. Florida: CRC press, 1981: 201-218.
- 42- Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 1983; 221: 1256-1266.
- 43- Butler MG, Sanger WG. Increased frequency of sister-chromatid exchanges in alcoholics. *Mutat Res* 1981; 85: 71-76.
- 44- Hopkin JM, Evans HJ. Cigarette smoke-induced DNA damage a lung cancer risks. *Nature (Lond.)* 1980; 283: 388-390.
- 45- Hedner K, Hogstedt B, Kolning AM, Mark-Vendel E, Strombeck B, Mintelman F. Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in relation to smoking in 91 individuals. *Hereditas* 1983; 98: 77-81.
- 46- Moorehead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960; 20: 613-616.
- 47- Preston RJ, Au W, Bender MA, Brewen JG, Carrano AV, Heddle JA, McFec AF, Wolff S, Wassom JS. Mammalian in vivo and in vitro cytogenetic assays: a report of the US EPA Gene-Tox program. *Mutat Res* 1981; 87: 143-188.
- 48- Savage JRK. Classification and relationship of induced chromosome structural changes. *J Med Genet* 1975; 12: 103-122.
- 49- Bloom AD. Guidelines for studies of human populations exposed to mutagenic and reproductive hazards. New York: March of Dimes Birth Defects Foundation, 1981.
- 50- Savage JRK. Radiation-induced chromosomal aberrations in the plant *Tradescantia*: Dose-response curves. I. Preliminary considerations. *Radiat Bot* 1975; 15: 87.
- 51- Savage JRK. The production of chromosome structural changes by radiation: an update of Lea (1946), Chapter VI. *British J Radiol* 1989; 62: 507.
- 52- Brandan ME. La Radiación. Origen, beneficios y peligros. México: SEP y UNAM, 1986.
- 53- Brewen JG, Preston RJ, Littlefield LG. Radiation-induced human chromosome aberration yields following and accidental whole-body exposure to Co-rays. *Radiat Res* 1972; 49: 647-656.
- 54- Brewen JG, Gengozian N. Radiation-induced human chromosome aberration. II. Human in vitro irradiation compared to in vitro and in vivo irradiation of marmoset leukocytes. *Mutat Res* 1971; 13: 383-391.
- 55- Clemenger JFP, Scott D. A comparison of chromosome aberration yields in rabbit blood lymphocytes irradiated in vivo. *Int J Radiat* 1973; 24: 487-496.
- 56- Preston RJ, Brewen JG, Jones KP. Radiation-induced chromosome aberrations in Chinese hamster leukocytes. A comparison of in vivo and in vitro exposures. *Int J Radiat Biol* 1972; 21: 397-450.
- 57- Bender MA, Gooch PC. Somatic chromosome aberrations induced by human whole-body irradiation: the "Recuplex" criticality accident. *Radiat Res* 1966; 29: 568-582.
- 58- Lloyd DC, Prosser JS, Moquet JE, Malowany DJ. Doses in radiation accidents investigated by chromosome aberrations analysis. XIII. A review of cases investigated: 1982, Harwell, Oxfordshire, National Radiological Protection Board, 1983.
- 59- Carrano AV, Heddle E. The fate of chromosome aberrations. *J Theor Biol* 1973; 38: 289.
- 60- Pantelias GE, Maillie HD. The use of peripheral blood mononuclear cell prematurely condensed chromosomes for biological dosimetry. *Radiation Res* 1984; 99: 140-150.
- 61- Herrera LA, Ostrosky-Wegman P. La condensación cromosómica prematura (PCC). Una nueva herramienta en la investigación básica y clínica. *Lab-acta* 1991; 3: 37-42.
- 62- Buckton KE, Hamilton GE, Paton L, Langlands AD. Chromosome aberrations in irradiated ankylosing spondylitis patients. En: Evans HJ, Lloyd DC, eds. *Mutagen-induced chromosome damage in man*. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1978: 142-150.
- 63- Awa AA, Sofumi T, Honda T, Iton M, Nerishi S, Otake M. Relationship between the radiation dose and chromosome aberrations in atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki. *J Radiat Res (Tokyo)* 1978; 19: 126-140.
- 64- Kato H. Mechanisms for sister chromatid exchanges and their relation to the production of chromosomal aberrations. *Chromosoma* 1977; 59: 179.
- 65- Evans HJ, Vijayalaxmi. Storage enhances chromosome damage after exposure of human leukocytes to mitomycin C. *Nature (Lond.)* 1980; 284: 370-372.
- 66- Preston RJ, Gooch PC. The induction of chromosome-type aberrations in G by methyl methanesulfonate and 4-nitroquinoline-N-oxide and the non-requirement of an S-phase for their production. *Mutat Res* 1981; 83: 395-402.