

INGRESO: 2006A/EGRESO: 2011B

CODIGO: 206197744

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

---

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



## **Agentes mutagénicos y su daño en el ADN**

**Investigación y Estudios de Posgrado  
que para obtener el grado de**

**Licenciado en Biología**

**Presenta**

**Juan Fernando Landeros Gutiérrez**



**Universidad de Guadalajara**

**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**

*Coordinación de Carrera de la Licenciatura en Biología*

COORD. BIOL. 174/2012

**C. JUAN FERNANDO LANDEROS GUTIÉRREZ  
PRESENTE**

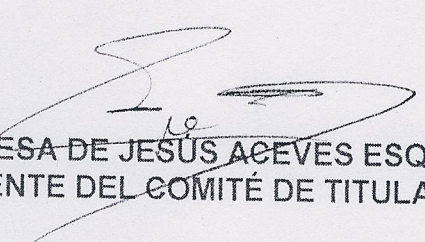
Manifestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **Investigación y Estudios de Posgrado** opción: **Trabajo Monográfico de actualización**, con el título "**Agentes Mutagénicos y su Efecto en el ADN**", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos, que ha sido aceptado como director(a) de dicho trabajo a **Dr. Carlos Álvarez Moya**, y como asesor(s) a: **Mónica Reynoso Silva**.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE  
"PIENSA Y TRABAJA"**

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 20 de septiembre, del 2012.



**DRA. TERESA DE JESÚS ACEVES ESQUIVIAS  
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

*Veronica Palomera Cto.*  
**M.C. VERÓNICA PALOMERA AVALOS  
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

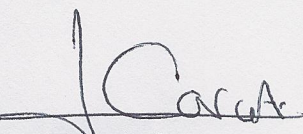


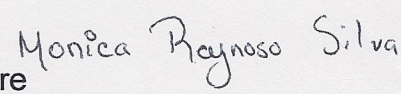
Dra. Georgina Adriana Quiroz Rocha.  
 Presidente del Comité de Titulación.  
 Licenciatura en Biología.  
 CUCBA.  
 Presente

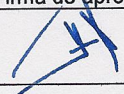
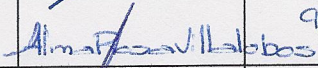
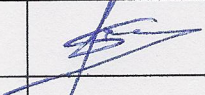
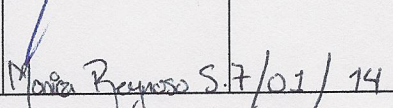
Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad de **Investigación y Estudios de Posgrado**, opción **Trabajo Monográfico de actualización** con el título: **"Agentes Mutagénicos y su daño en el ADN"** que realizó el pasante **Juan Fernando Landeros Gutiérrez** con número de código **206197744** consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

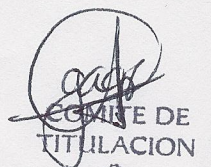
Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente  
 Lugar y fecha.  
 Las Agujas, Zapopan 7 de Enero del 2014

Firma   
 Nombre  
 Director/a del trabajo  
 Dr. Carlos Álvarez Moya

firma   
 nombre  
 Asesor(es)  
 M en C. Mónica Reynoso Silva

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
Alfonso Islas Rodriguez		14 Ene 2014
Alma Rosa Villalobos Arambula	 Alma Rosa Villalobos	9 Ene 2014
Sergio Álvarez Barajas		19-01-2014
Supl. Monica Reynoso Silva	 Monica Reynoso S.	7/01/14



18/I/2014

## **Agradecimientos**

A mi familia que es el pilar mas grande en el cual me sostengo.

A mi madre que día a día me da fuerzas para levantarme y luchar por mis sueños y vencer todos los obstáculos que se atraviesan en cada etapa de mi vida.

A mi padre por darme ese ejemplo de seguir adelante y dar mas cuando se piensa que ya lo diste todo.

A mis hermanos Iván, Ricardo y Diego que han sido mis ángeles guardianes en las buenas y en las malas.

A mi sobrina Layla que es un ángel que me brinda armonía y al nuevo miembro de la familia Matías.

A mi tía Rosario por su apoyo incondicional y consejos y su inquisitivo punto de vista de todas las cosas.

A mi equipo de danza stompers y fist que a diario purifican mi alma divagando con movimientos en la duela.

A mi director el Dr. Carlos Alvarez, por confiar en mi y brindarme todo ese apoyo fuera y dentro del área de trabajo para mi formación profesional.

A mi asesora la M.C. Mónica Reynoso Silva, por brindarme confianza y apoyo y los medios necesarios para la realización de esta tesis.

A mis sinodales:

Dr. Alfonso Islas Gutiérrez, por el apoyo brindado en la redacción de esta tesis y su amable trato en cada visita.

Dra. Alma Rosa Villalobos Arambula, por su sabia experiencia es el área biológica, así como también por su atención en mi trabajo de tesis.

M.C. Sergio Alvarez Barajas, por brindarme siempre un trato amable y sereno y por demostrar empatía en mi proyecto, lo cual fue pieza fundamental en la elaboración de este documento.

# INDICE

## Indice

Generalidades de genética y salud	1
Generalidades del ADN	9
Mutación	24
Mutágenos físicos, químicos y biológicos	37
Mutágenos naturales en Plantas y Hongos	55
¿Armas Químicas como Insumo Agrícolas?	67
Carcinogénesis Ambiental	78
Sistemas para la detección de daño genético	104
Legislación sobre el manejo de sustancias peligrosas	128

## GENERALIDADES DE GENETICA Y SALUD

### Introducción

Desde tiempo atrás, el hombre observó como un ser vivo originaba otro de características similares: un árbol siempre daba origen a otro del mismo tipo, o bien, un pez siempre producía otros de la misma especie. El humano no es la excepción: humanos engendran humano y más aún; los hijos presentaban un gran parecido con sus padres. No obstante todo lo anterior, tuvo que pasar mucho tiempo para que el hombre pudiera explicarse este fenómeno.

Las anomalías en la transmisión de características genéticas fueron observadas desde hace mucho tiempo. Actualmente sabemos que esto se debe a cambios en uno o varios genes. Estos cambios, llamados mutaciones, suelen ocurrir eventualmente (mutación espontánea) y se atribuyen a errores en los mecanismos que dan lugar al ADN, o bien a la acción de agentes físicos, químicos y biológicos sobre el material genético. Por desgracia, el desarrollo de las sociedades modernas está basado en la generación de una gran cantidad de sustancias químicas, muchas de las cuales, ocasionan daño a los seres vivos y entre ellos al hombre. Este daño puede incluir no sólo los efectos a corto plazo como quemaduras, intoxicaciones y alergias, sino también efectos a largo plazo: el cáncer y daños genéticos en las generaciones futuras. Desafortunadamente la rapidez con la que se generan estas sustancias supera con mucho la velocidad con la que se diagnostican sus efectos sobre los seres vivos, por lo que resulta de suma importancia conocer cuales son estas sustancias y evaluar sus efectos sobre la salud.

*El ADN: la molécula de la vida.* La genética, es decir, el estudio de los fenómenos relacionados con la herencia, inicia con los experimentos del monje austriaco Gregor Mendel, quien estudió con detenimiento la transmisión de las características de los padres a los hijos. Para ello, seleccionó un vegetal: la planta del chícharo, especie que facilitó el análisis de la herencia. Entre los rasgos hereditarios que estudió, se encuentran: color y textura de la semilla,



estructura de la vaina, color y posición de la flor y tamaño de la planta ¿a qué se debía la transmisión de estas características? Los experimentos realizados por Mendel le permitieron inferir la existencia de partículas responsables de la herencia, ahora llamados genes. El gen, unidad de herencia, contiene la información para la manifestación de características o funciones biológicas: color del pelo, información para la construcción de moléculas tan importantes como la hemoglobina encargada de captar el oxígeno, la construcción de enzimas para la liberación de energía. En fin, los genes guardan toda la información necesaria para la vida de un organismo. Pero ¿de qué están hechos? La respuesta, ahora es simple, se necesitó mucho tiempo para ser contestada, sabemos que los genes están constituidos de moléculas gigantescas llamadas ácido desoxirribonucleico (figura 1.1).

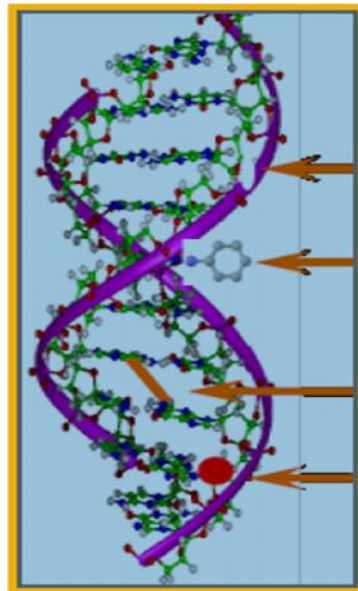


Figura 1.1. Modelo clásico del ADN.

*Mutación.* Durante mucho tiempo el hombre observó que eventualmente ocurren cambios en las características visibles o funcionales de un organismo, por ejemplo, en la altura o fertilidad de plantas o animales y aparición de enfermedades heredables. Algunos de estos cambios confieren ventajas a un organismo pero en la mayoría de los casos no es así; se pueden observar organismos enfermos. Estos cambios o mutaciones se deben a alteraciones en la información genética (ADN) y pueden ser de varios tipos: genéticos, cromosómicos y genómicos. Las consecuencias de los cambios dependerán de

la importancia de los genes implicados, los nucleótidos afectados dentro del gen y las células en las que ocurren. En este sentido, encontramos dos tipos de mutación: germinales y somáticas. Las primeras son aquellas que ocurren en los gametos (espermias y óvulos), es obvio que un cambio de este tipo no afectará directamente al organismo que produce los gametos, pero si esta célula llega a dar origen a un nuevo ser éste presentará las consecuencias de dicho cambio. Si la mutación ocurre en células somáticas (cualquier célula del cuerpo excepto las germinales) pueden ocurrir varios eventos: a) la célula muere; b) la célula porta la anomalía pero no resulta importante para el resto del organismo, y c) la célula empieza a tener un comportamiento anormal: crece sin control invadiendo diferentes tejidos hasta que ocasiona la muerte del organismo completo. Con lo anterior me refiero al desarrollo de cáncer, una enfermedad de tipo molecular sumamente frecuente en la población humana. Estas últimas son las mutaciones más importantes desde el punto de vista evolutivo y de la mejora genética. Por otro lado, las mutaciones pueden afectar a los cromosomas sexuales o a los autosomas.

Las mutaciones puntuales son cambios en un par de bases en el ADN. La enfermedad de la Hb S ejemplifica las consecuencias de una mutación de este tipo (figura 1.2).

Las mutaciones cromosómicas son alteraciones grandes de ADN: pérdida de secciones de un cromosoma o incluso de un cromosoma completo. Muchas enfermedades genéticas en el hombre son debidas a estos fenómenos (Cuadro 1.1). El cáncer puede ser originado tanto por mutaciones de tipo puntual, como a mutaciones de tipo cromosómico.



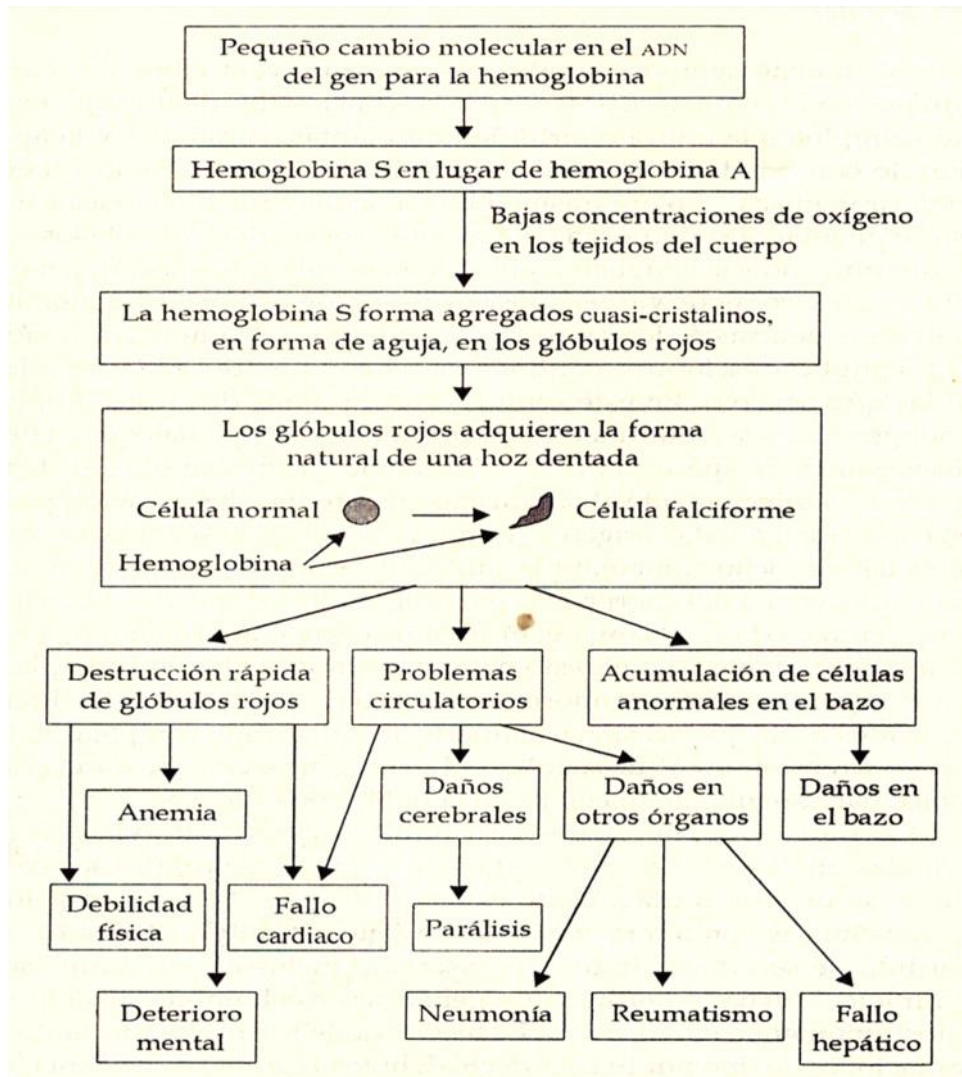


Figura 1.2. Consecuencias de la sustitución de un aminoácido: valina por ácidoglutámico (Val Glu) en enfermedad llamada anemia falciforme o HbS. (Tomada de Griffiths et al., 1995).

**Mutación y cáncer.** El cáncer es una enfermedad de origen genético. Los primeros hallazgos que apoyan esta teoría provienen de observaciones en ciertos tipos de cáncer, en los cuales, las células contienen cromosomas dañados. Más tarde se observó que en individuos con xeroderma pigmentosus la radiación solar puede inducir rupturas cromosómicas.

La expresión de los genes individuales puede ser alterada por mutación o por cambios en su regulación. El desarrollo del cáncer es dividido en las siguientes fases: *iniciación*, *promoción* y *progresión*. En cada etapa puede haber cambios

génicos y cromosómicos en el nivel somático. Dependiendo de su comportamiento, los genes responsables del desarrollo del cáncer son llamados *oncogenes* y *genes represores* de tumores.

*Agentes que inducen daño genético.* Como se mencionó anteriormente, los cambios en la información genética pueden ocasionar enfermedades heredables como cáncer y cambios no necesariamente patológicos, pero ¿quiénes ocasionan estos cambios? Si bien los cambios pueden ocurrir sin causa aparente, a lo cual llamamos mutación espontánea, ésta puede incrementarse de manera notable gracias a la acción de agentes químicos, físicos o biológicos. Las sustancias químicas pueden reaccionar en forma específica con el *ADN* ocasionando el daño; dos ejemplos se presentan en la figura 1.3.

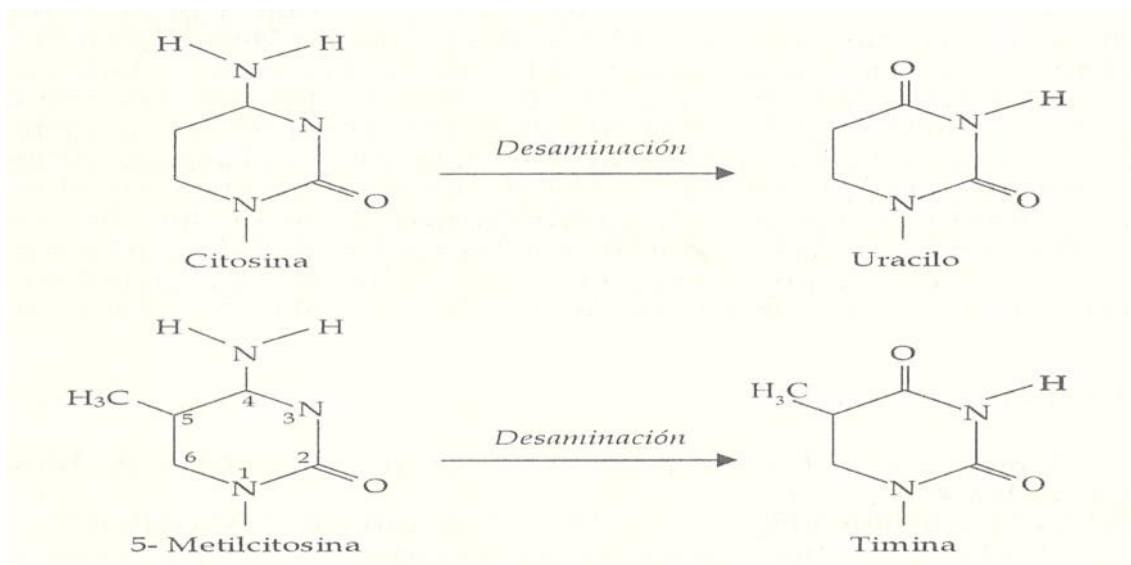


Figura 3. Desaminación de (a) citosina y (b) 5-metilcitosina.

Actualmente se calculan que existen más de cinco millones de sustancias químicas diferentes y cada año son producidas 100 mil nuevas sustancias y entran en contacto con las poblaciones de manera muy diversa: contaminación ambiental, exposición ocupacional, alimentación, aplicación médica, etc. Las sustancias químicas afectan incluso a personas cuya exposición a estos compuestos debería ser pequeña. En el cuadro 1.2 se presentan diferentes tiempos de cánceres asociados a la actividad ocupacional.

Cuadro 1.2

Asociación entre la actividad ocupacional y el tipo de cáncer (órgano blanco)

Actividad ocupacional	Localización del cáncer
Químicos	Páncreas y linfomas
Mineros de la hulla	Estómago
Fundidores	Pulmón
Trabajadores textiles	Boca y faringe
Impresores de periódicos	Boca y faringe
Mineros	Pulmón
Trabajadores de la industria hulera	Estómago y leucemia
Zapateros	Senos nasales
Peleteros	Vejiga

Diversos estudios han evaluado la asociación entre la actividad laboral y el tipo histológico de cáncer de encéfalo, por ejemplo, Kerr y col encontraron en el año 2000, que el trabajo de los padres tiene relación con la presencia de neuroblastoma en niños de 0 a 14 años de edad. Se observó que las madres de niños con neuroblastoma estuvieron expuestas a acetona, insecticidas, plomo o petróleo y los padres a criosota y dioxina.

Como se observa, el problema resulta sumamente preocupante. Existen muchas otras actividades en las cuales no sabemos si hay exposición a sustancias o si las sustancias son mutagénicas o carcinogénicas. Además se conoce el efecto mutagénico y/o carcinogénico de aproximadamente 2000-2500 sustancias, del resto se ignoran sus efectos a largo plazo.



Algunos datos nos pueden ayudar a evaluar la magnitud del problema: a) de todos los niños que nacen vivos, el 1% presenta anormalidades cromosómicas; b) el 50% de todos los abortos se deben a la presencia de cromosomas anormales; c) las enfermedades genéticas heredables son debidas a mutaciones en un solo gen, aunque se presentan en frecuencias relativamente bajas, todas ellas juntas pueden llegar a constituir un porcentaje importante; d) el 10-15% de las enfermedades son debidas a causas genéticas, y e) el 80% de todos los cánceres son de origen ambiental. Es clara e importante la relación entre la generación, el uso y control de las sustancias químicas, la salud y el aspecto económico. La correcta aplicación de las normas para la producción, el manejo y venta de sustancias químicas por parte de las diversas autoridades implicadas en este problema resulta decisiva. Al mismo tiempo, gobiernos y universidades tienen un importante papel en la identificación de los compuestos capaces de dañar al material genético.

### ***Bibliografía***

- Aguire M. y Sotelo J. (2008). *Tumores Cerebrales*. Editorial Médica Panamericana.
- Albert L.A.(1988). *Curso básico de toxicología ambiental*.Noriega Editores, México.
- Assadourian E., Brown L., Carius A. (2005). *State of the World*
- Cuevas R. (2010). *Los canaries lipocromicos y melánicos*. Hispano Europea, S\_A.
- Dorothy B. (2008). *DNA Changing Science and society*
- Griffiths J.F., Miller J.H., Suzuki D.T., Lewontin R.C y Gelbart W.L. (1995). *Genética*. Interamericana y McGraw-Hill, Madrid.
- Li A.P.y Heflich R.H.(1991). *Genetic toxicology*.CRC Press, Boston.Estados Unidos.
- Salamanca F.(1990). *Citogenética humana*. Editorial Médica panamericana, México.
- Thomson J.S.(1986). *Genetics in medicine*.W.B.Saunders, Tokio.
- Vogel F. y Motulsky A.G. (1982). *Human genetic*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-Nueva York.

## GENERALIDADES DEL ADN

### Introducción

Las células contienen información hereditaria codificada en moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN); esta información dirige la actividad de la célula y asegura la reproducción y el paso de los caracteres a la descendencia (De Robertis, 1991).

El ADN es una macromolécula presente en todas las células de los organismos. Es la sustancia que compone a los cromosomas de la célula; contiene la información genética necesaria para las funciones celulares y dirige la construcción de proteínas (Avers, 1983). El ADN se usa para sintetizar moléculas de ácido ribonucleico (ARN) a partir de ADN y proteínas utilizando moldes de ARN mensajero (ARNm) (De Robertis, 1991).

El ADN no está libre en las células eucariotas, sino que forma complejos con proteínas para producir cromatina y ésta se condensa para formar estructuras llamadas cromosomas (Cox y Sinclair, 1998). Las moléculas de ADN se encuentran en la cromatida del núcleo, en las mitocondrias y en los cloroplastos. La doble hélice consiste en dos esqueletos helicoidales de azúcar-fosfato entrelazados, con las bases heterocíclicas del ADN proyectándose hacia el interior desde cada una de las cadenas. Las dos cadenas son antiparalelas, es decir, están en sentidos contrarios, y ambas se relacionan mediante un eje de simetría doble (díada) perpendicular al eje de la doble hélice. Las bases se ordenan en pares purina-pirimidina, adenina con timina y guanina con citocina unidos por enlaces de hidrogeno (Dorothy B. 2008).

Al grupo completo de las instrucciones necesarias para la obtención de un organismo se le llama genoma. Éste contiene la información necesaria para todas las estructuras y actividades celulares que requiere un organismo o una célula para sobrevivir y se encuentra en el núcleo de cada célula. El genoma humano está compuesto por un estimado de 35,000 genes localizados en 23

pares de cromosomas en cada célula del cuerpo humano a excepción de los gametos y los eritrocitos maduros. Este genoma está formado por 3 mil millones de pares de bases ( $3 \times 10^9$  pb).

El ADN en los cromosomas permanece constante entre las diferentes especies. A principios de la década de los cincuenta, Alfred Mirsky y Roger Vendrely demostraron que todas las células de los distintos tejidos de un organismo contienen la misma cantidad de ADN (Ville, 1985).

En el humano existen 24 formas físicamente distintas de cromosomas: 22 son autosomas y uno corresponde al par sexual (X e Y) (figura 2.1).

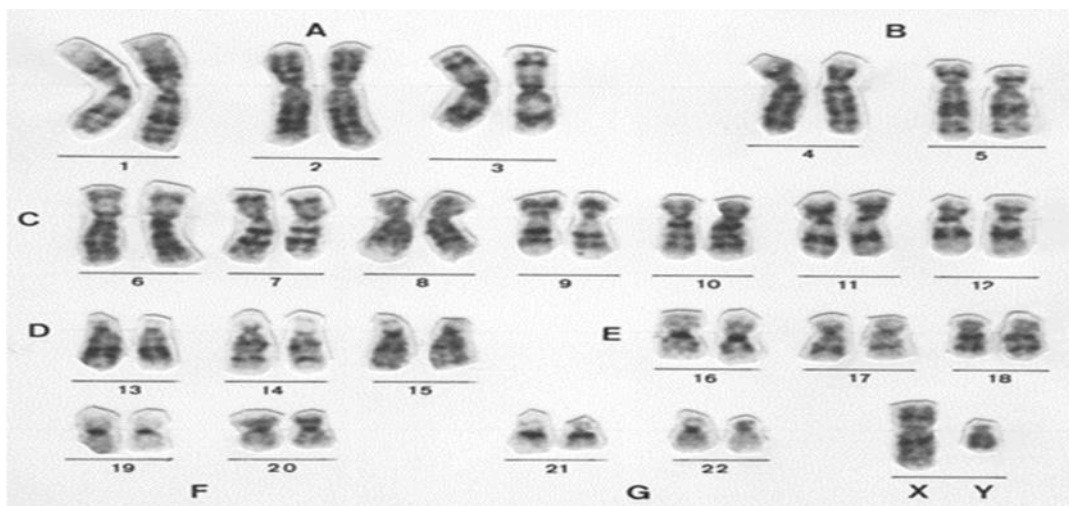


Figura 2.1. Cariotipo humano. Se pueden apreciar los pares cromosómicos de un individuo del sexo masculino

En el núcleo, las moléculas de ADN y proteínas están organizadas en cromosomas que suelen aparecer dispuestos en pares idénticos. Los cromosomas están muy retorcidos, enmarañados y es difícil identificarlos por separado. Pero justo antes de que la célula se divida se condensan y adquieren grosor suficiente para ser detectables como estructuras independientes. La información para el desarrollo y las funciones específicas de las células y tejidos se encuentra en sitios específicos del cromosoma y está almacenada en los genes. Un gen es una porción de la información genética que puede ser definido como una sección de ADN responsable de la formación de un polipéptido (un gen, un polipéptido). Uno o más polipéptidos forman una



proteína, por lo cual, varios genes pueden estar involucrados en la formación de una proteína (Passarge, 1995; Cox y Sinclair, 1998).

El ADN de cada cromosoma es una molécula única muy larga y enrollada que contiene secuencias lineales de genes (Figura 2.2). Éstos encierran, a su vez, instrucciones codificadas para la construcción de las moléculas de proteínas y ARN necesarias para producir una copia funcional de la célula. Para cada organismo los cromosomas codifican toda la información necesaria para crear y mantener la vida, desde una bacteria hasta un ser humano.

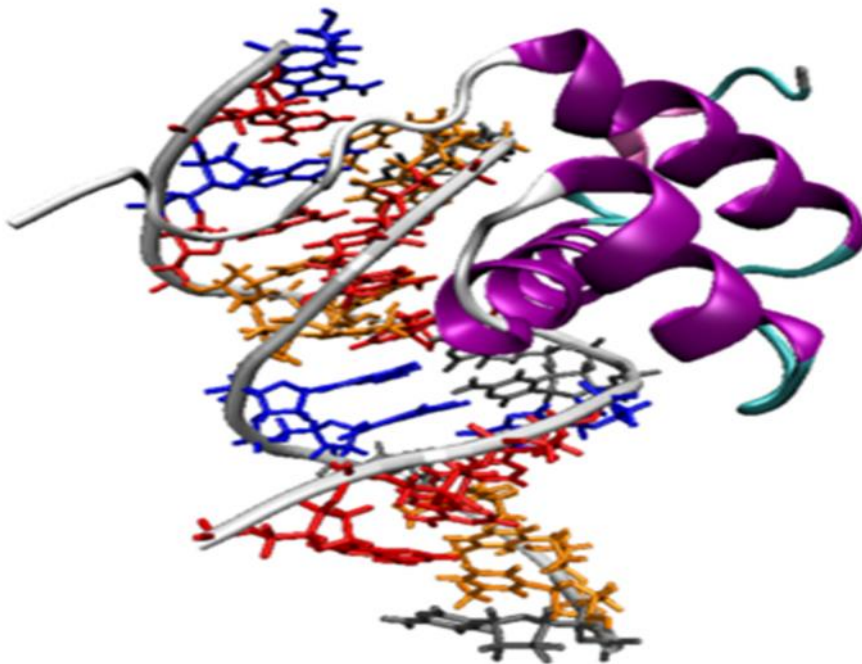


Figura 2.2. Representación de la estructura molecular del ADN.

Si la molécula de ADN humana se extendiera completamente tendría una longitud de 1.7 metros, si se pudiera desenrollar todo el ADN contenido en todas las células de un humano se podría recorrer la distancia que hay de la tierra a la luna 6 000 veces.

### Historia

En 1896, Johann Friedrich Miescher identificó una sustancia ácida débil que contenía fósforo, aparentemente de un gran peso molecular, asociado al nucléolo de las células y de función desconocida en células blancas humanas,

a la que dio el nombre de nucleína. Esta sustancia fue posteriormente llamada ácido desoxirribonucleico o ADN (Lederberg, 1993).

En 1889, Richard Altmann fue el primero en utilizar el término ácido nucleico. A partir de 1912, los científicos sir William Henry Bragg y su hijo, sir William Lawrence Bragg, descubrieron y pudieron deducir la estructura atómica de cristales por medio de patrones de difracción de rayos X. Posteriormente Rosalind Franklin y Maurice Wilkins del Kings College de Londres, obtuvieron datos acerca de la cristalografía por rayos X del ADN. Estos datos presentados por Franklin y Wilkins demostraron que la molécula de ADN era probablemente una hélice, una espira gigante, que fue lo que llevó a Watson y Crick a descifrar y determinar la estructura de ADN.

En 1944, Oswald Theodore Avery afirmó que el ácido nucleico portaba la información genética y no las proteínas, lo cual terminó esta disyuntiva.

En 1949, el bioquímico Erwin Chargaff afirmó que la composición de ADN es especie-específica, esto es, que la cantidad de ADN varía de una especie a otra. Más aún, Chargaff encontró que la cantidad de adenina es igual a la de timina y la cantidad de guanina es igual a la de citosina en los ADN de todas las especies (De Robertis, 1991).

A partir del descubrimiento de la nucleína, la función biológica de este material no se descubrió sino casi un siglo después cuando Avery, MacLeod y McCarty, en la década de los cuarenta, establecieron que ese material nucleico ácido (específicamente ADN) contenía la información hereditaria (Bohinski, 1991). Los tipos principales de macromoléculas son las proteínas, formadas por cadenas lineales de aminoácidos; los ácidos nucleicos, ADN y ARN, formados por bases nucleotídicas, y los polisacáridos, formados por subunidades de azúcares. Por muchos años se creyó que las proteínas eran las responsables de la transmisión de la información hereditaria, debido a su complejidad equivalente a la del ADN (Alberts et al., 1994).

El ADN está compuesto de cuatro subunidades, mientras que las proteínas constan de 20; la molécula de ADN es lineal, en tanto que las proteínas se presentan en formas lineales y globulares. Se ve claro que la simplicidad

relativa del ADN no podría ser la encargada de llevar la información genética necesaria para la gran variabilidad de vidas alrededor de nosotros. El análisis químico reveló que los cromosomas consisten en un tipo particular de ADN y proteínas, más o menos en partes iguales. Así, ambos eran candidatos por igual al cumplir la función del material genético. Aunque las investigaciones de Frederick Griffith y de Oswald Avery (1928) apuntaban al ADN como el material genético, los elegidos principales para cumplir esta función eran las proteínas por su mayor complejidad química. La hipótesis era lógica, pero resultó ser errónea y tiempo después se comprobó que la molécula que contenía la información hereditaria era uno de los tipos de ácidos nucleicos, uno de los cuales se conoce ahora como ácido desoxirribonucleico o ADN (Avers, 1983; Suzuky et al., 1992; passarge, 1995).

No fue hasta los años cuarenta, cerca de los cincuenta, que la mayoría de los biólogos aceptaron que la molécula de ADN encontrada de los cromosomas es la responsable de la transmisión hereditaria (Karp, 1987). La evidencia final de que el ADN, y no otra molécula, es la que transmite la información genética fue provista por A.D.Hershey y M.Chase en 1952 en sus experimentos con bacteriófagos (Passarge, 1995).

En 1953 James Watson, biólogo norteamericano y Francis Crick, físico inglés, descifraron la estructura química del ADN. En esta época ambos acumularon la información acerca de estudios previos en este campo de la investigación. No experimentaron en el sentido usual, sino que se dedicaron a tratar de unificar todo lo referente al ADN en todo coherente (Curtis, 1985). Los datos empíricos fundamentales provenían de los estudios previos de Chargaff sobre la composición de las bases de los ADN y de los estudios del ADN por difracción de rayos X que en aquellos años estaban efectuando Maurice Wilkins y Rosalind E. Franklin en Londres. Por sus aportaciones, Watson, Crick y Wilkins recibieron el premio Nobel en 1962 (Dickerson, 1983). Basándose en estos hechos Watson y Crick propusieron en 1953 una estructura modelo para la molécula de ADN (Figura 2.3) que explica las propiedades del gen:

1. Capacidad para reproducirse exactamente y de mutar.
2. Transmisión de información.



Watson y Crick sugirieron y demostraron que la molécula de ADN es una doble hélice entrelazada. Cada hélice es una cadena de nucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster en la que pares de bases establecen puentes de hidrógeno específicos entre ellos (Crick y Watson 1953).

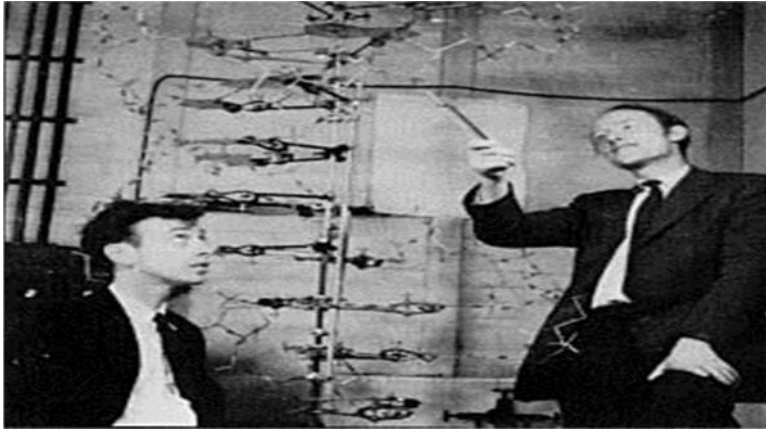


Figura 2.3. Crick y Watson 1953 explicando el modelo del ADN.

La elucidación de la estructura del ADN por Watson y Crick, en 1953, fue uno de los descubrimientos más apasionantes de la genética, lo que provocó un impacto particularmente intenso al presentar, con su propia estructura, indicios de como podría el ADN desempeñar sus funciones de almacenamiento y transmisión de la información genética. Esto abrió el camino a la comprensión, en términos moleculares, de la herencia y de la forma de actuar de los genes (Investigación y Ciencia, 1985; Wolfe, 1993).

En el número del 25 de abril de 1953 de la revista Nature, Watson y Crick, trabajando en el Cavendish Laboratory de Cambridge, Inglaterra, usaron sólo unas mil palabras para relatar su descubrimiento de la estructura tridimensional del ADN estos investigadores propusieron lo siguiente:

1. La molécula de ADN tiene una estructura de doble hélice integrada por dos cadenas alineadas con polaridad opuesta –una que corre en sentido  $3' \rightarrow 5'$  y otra que lo hacen sentido  $5' \rightarrow 3'$  y retorcidas con giro hacia la derecha.
2. Las bases purínicas y pirimidínicas están dentro de la estructura helicoidal en las que las bases opuestas que se encuentran sobre las dos cadenas forman puentes de hidrógeno a todo lo largo de la doble cadena. Se demostró que este planteamiento es correcto y ha sido aceptado en general como el

logro aislado que revolucionó las ciencias biológicas en el siglo XX. Por lo tanto, cuando Watson y Crick informaron en 1953 que habían resuelto la estructura molecular del ADN dio comienzo una nueva era en la bioquímica y la biología (Crick y Watson, 1953; Bohinsky, 1991).

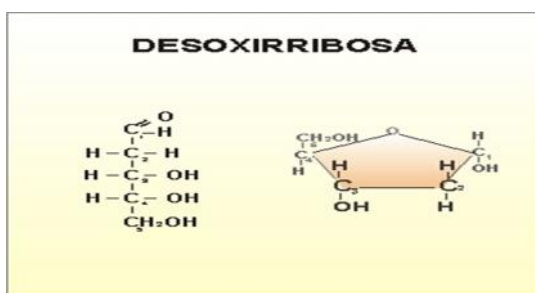
## Estructura

El ADN es un polinucleótido de doble cadena cuya misión es conservar la información genética, especificando la secuencia de aminoácidos de todas y cada una de las proteínas celulares. En su composición entran a formar parte: nucleótidos de bases púricas y pirimidínicas (Armando G. 2006).

*Componentes.* Las sustancias que componen al ADN son: azúcares sencillos del tipo de la desoxirribosa, radicales fosfóricos y ciertos compuestos nitrogenados, bases púricas (adenina, guanina) y pirimidínicas (citosina y timina)(Avers, 1983).

Una pentosa, la desoxirribosa, se usa como constituyente de las grandes cadenas de ácidos nucleicos (figura 2.4). La desoxirribosa carece de un grupo OH sobre el carbono 2<sup>o</sup> esto es, se sustituye el grupo OH por un H la -D-2-desoxirribosa está compuesta por cinco átomos de carbono unidos en una estructura anular de furanosa como un átomo de oxígeno.

Figura 2.4. Desoxirribosa.



El primer átomo de carbono (1<sup>o</sup>) es el que se une a una de las cuatro bases nitrogenadas. El grupo fosfato se une en el carbono 3<sup>o</sup> y en el carbono 5<sup>o</sup>. (Alberts et al., 1994).

En los polinucleótidos el azúcar y el fosfato de los monómeros nucleotídicos adyacentes se unen por medio de enlaces éster. Como el azúcar y el fosfato de

cada monómero también están unidos por medio de un enlace éster, la unión fosfato-azúcar, a lo largo del esqueleto de la cadena polinucleotida se llama enlace fosfodiéster. Las bases nitrogenadas no tienen más enlaces covalentes que los que las unen al azúcar del esqueleto. Las bases que se observan más a menudo en el ADN son las purinas adenina (A) y guanina (G) y las pirimidinas citosina (C) y timina (T) (Figura 2.5). Es la secuencia de bases nitrogenadas a lo largo del esqueleto invariable de azúcar-fosfato lo que determina la estructura única del ADN (Lewin, 1993).



Figura 2.5. Bases nitrogenadas constituyentes del ADN.

Existen algunas generalizaciones importantes respecto a los patrones de composición de bases nitrogenadas en el ADN, independientemente de su origen (excepto algunos ADN virales). Estas generalizaciones han llegado a conocerse como reglas de Chargaff en honor a E. Chargaff quien fue el primero en identificarlas a mediados del siglo XX. Esas generalizaciones son (Eigen et al., 1981; Curtis, 1985):

1. El número de bases purínicas (A + G) está en equilibrio con el número de bases pirimídicas (T + C); es decir, la razón aritmética entre purinas y pirimidinas es muy próxima a 1 (purinas / pirimidinas = 1.0).
2. El número de residuos de adenina está en equilibrio con el número de residuos de timina; es decir, la razón entre adenina y timina es muy cercana a 1 (A/T = 1.0).



3. El número de residuos de guanina está en equilibrio con el número de residuos de citosina; es decir, la razón entre guanina y citosina es muy cercana a 1 ( $G/C = 1.0$ ).

El patrón de interacción entre las bases nitrogenadas concuerda perfectamente con las observaciones de Chargaff. Siempre hay una purina unida por puentes de hidrógeno a una pirimidina. Por lo tanto, la adenina siempre está unida por puentes de hidrógeno a la timina  $A=T$  (de ahí la razón  $A/T= 1.0$ ) y la guanina siempre está unida por puentes de hidrógeno a la citosina  $G^{\circ}C$  (de ahí la razón  $G/C=1.0$ ). Otras combinaciones de pares de bases (pb) son incompatibles con la geometría de la doble hélice. Por consiguiente, las combinaciones  $A=T$  y  $G=C$  reciben el nombre de pares de bases complementarias. Más aún, la secuencia de bases de una cadena es complementaria a la secuencia de la otra. La fuerza de enlace de un par  $G=C$  con tres pares de puentes de hidrógeno es mayor que la del par  $A=T$ , que sólo tiene dos.

Los modelos espaciales muestran la disposición coplanar de los enlaces de estos sistemas anulares aromáticos heterocíclicos. Aunque A, G, C y T contienen dipolos, lo que les proporciona el potencial para las interacciones mediante puentes de hidrógeno (Figura 2.6), la índole aromática de los anillos les confiere un carácter apolar y esto permite que las purinas y pirimidinas también participen en asociaciones hidrofóbicas (Bohinski, 1991).

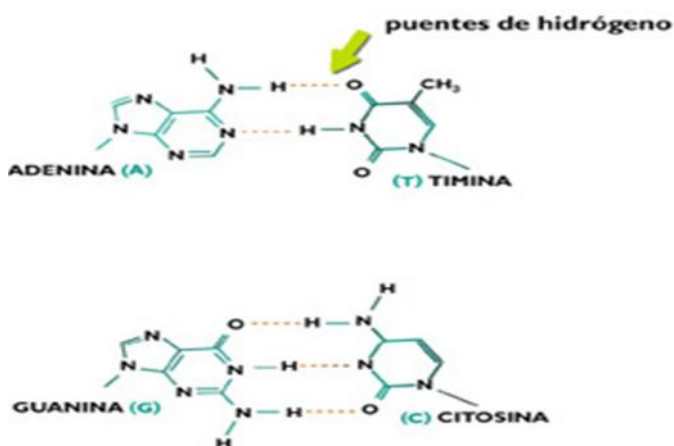


Figura 2.6. Interacción purinas pirimidinas mediante puentes de hidrógeno.

La ordenación de las bases nucleotídicas a lo largo de las cadenas determina la información que especifica la composición de todas las moléculas proteicas

de un organismo. La especificidad del apareamiento de bases es la característica estructural más importante del ADN (Passarge, 1995). La porción integrada por azúcar–base nitrogenada se denomina nucleósido. Por lo común el enlace covalente se forma entre el átomo C1 del azúcar y el átomo N1 de una pirimidina o el N9 de una purina. Un nucleótido es un nucleósido en cuya unidad de azúcar hay un grupo fosfato unido por un enlace éster. Por lo general el enlace ocurre en la posición 5' de la pentosa (Bohinski, 1991). A los nucleótidos, es decir, la unión de un nucleósido con uno o más grupos fosfatos, se les nombra de acuerdo con el número de grupos, esto es, monofosfonucleótidos, difosfonucleótidos o trifosfonucleótidos. Todos estos tipos existen en células vivas, por ejemplo adenosin monofosfato, adenosin difosfato, adenosin trifosfato (Lewin, 1994). Hay cuatro tipos de nucleótidos idénticos excepto por la base. Las bases adenina y guanina consisten en dos anillos mientras las bases citosina y timina están conformadas por un anillo solamente.

El exterior de la doble hélice del ADN está dominado por los armazones de las dos hebras entrelazadas. Cada hebra, un largo polímero de subunidades llamadas monómeros, posee un esqueleto en el que alternan grupos fosfatos con azúcar, la desoxirribosa, formando una cadena unida por enlaces covalentes (Investigación y ciencia, 1985; Wolfe, 1985). La doble cadena de ácido desoxirribonucleico está compuesta de una estructura principal formada por un azúcar desoxirribosa y grupos fosfatos; este esqueleto está unido a bases nitrogenadas, las cuales están conectadas por enlaces no covalentes entre ellas (Figura 2.7).

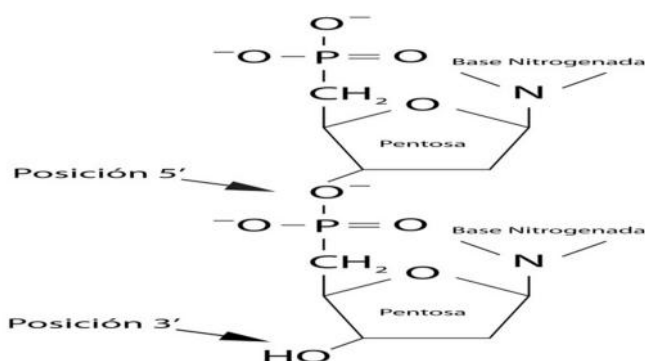


Figura 2.7. Esqueleto básico de la molécula del ADN.

Las cadenas presentan polaridad o dirección: presentan paralelismo en el dúplex, aunque con sentidos opuestos y con un paso de rosca dextrógiro (Investigación y ciencia, 1985), ya que la estructura del ADN se presenta como una doble hélice hacia la derecha, con alrededor de 10 pares de nucleótidos por giro. La separación óptima entre las bases es de 3.4 nm (Passarge, 1995).

### El código genético

El código genético está especificado por el orden de las adeninas, timinas, guaninas y citosinas en la hebra de ADN (Figura 2.8). Una sección de la hebra usualmente tiene una secuencia única de pares de bases y, dado que un gen es meramente una de estas secciones del ADN, entonces también posee una secuencia única de pares de bases que puede ser usada para distinguir el gen de otros genes y poder “mapear” su localización en el cromosoma.

	U	C	A	G	
U	UUU Fenilalanina UUC UUA Leucina UUG	UCU Serina UCC UCA UCG	UAU Tirosina UAC UAA Stop UAG	UGU Cisteína UGC UGA Stop UGG Triptófano	U C A G
C	CUU Leucina CUC CUA CUG	CCU Prolina CCC CCA CCG	CAU Histidina CAC CAA Glutamina CAG	CGU Arginina CGC CGA CGG	U C A G
A	AUU Isoleucina AUC AUA AUG Metionina	ACU Treonina ACC ACA ACG	AAU Asparagina AAC AAA Lisina AAG	AGU Serina AGC AGA Arginina AGG	U C A G
G	GUU Valina GUC GUA GUG	GCU Alanina GCC GCA GCG	GAU Acido Aspartico GAC GAA Acido Glutámico GAG	GGU Glicina GGC GGA GGG	U C A G

Figura 2.8. Representación del código genético, cada triplete codifica para un aminoácido.

El ADN transfiere información al ARN mensajero (ARNm) en forma de un código (transcripción) definido por una secuencia nucleotídica, lo cual, es nominado “código genético”. Durante la síntesis de proteínas (traducción), los ribosomas se mueven a lo largo de la molécula de ARNm y “leen” su secuencia por segmentos de tres nucleótidos a la vez (codón) desde el extremo 5<sup>l</sup> y hacia 3<sup>l</sup>. Cada aminoácido de la cadena polipeptídica sintetizado es codificado por un codón del ARNm, los cuales se aparean con otro triplete complementario (anticodón) situado en el ARN de transferencia (ARNt).

## Empaquetamiento del ADN

Se ha descrito el ADN como si se tratara de un ADN desnudo. La situación real es considerable más complicada, dada la existencia de niveles de empaquetamiento del ADN. La estructura secundaria está dada por asas o loops que ocurren entre bases complementarias posicionadas muy cerca, dadas por las interacciones de los puentes de hidrógeno (Lewin, 1993).

Aunque se forman largas cadenas de nucleosomas sobre la mayor parte del DNA cromosómico, la cromatina en las células vivas adopta en raras ocasiones la forma extendida en collar de perlas, el lugar de ello los nucleosomas se reúnen luego uno sobre el otro para generar una estructura más compacta (Dennis, 2006).

Las cantidades de ADN nuclear aparecen íntimamente asociadas, casi sin excepción, con proteínas denominadas histonas. Estas últimas envuelven el ADN, confiriéndole una forma compacta y ordenada conocida como cromatina. La subunidad fundamental de la estructura cromática es el nucleosoma. Un nucleosoma consiste aproximadamente 1.8 vueltas de ADN alrededor del complejo de proteínas histonas (Wolfe, 1993; Friedman et al., 1997). El siguiente nivel se caracteriza por el enrollamiento de rosarios de nucleosomas que adoptan la forma de solenoides, cada vuelta del solenoide contiene alrededor de 1200 pb de ADN. Posteriormente, una serie de nucleosomas estrechamente empaquetados formando asas corresponde a un segmento de cromosoma de alrededor de 300 mn. Otro nivel de empaquetamiento corresponde a un segmento más compactado de cromosomas en metafase. A esta forma se le denomina cromosoma condensado (Passarge, 1995). Un resumen del nivel de compactación se presenta en la figura 2.9. Una de las consecuencias de esta compactación ordenada es facilitar la aproximación en la cromatina de elementos secuenciales separados por distancias considerables a lo largo del ADN (Lewin, 1994).



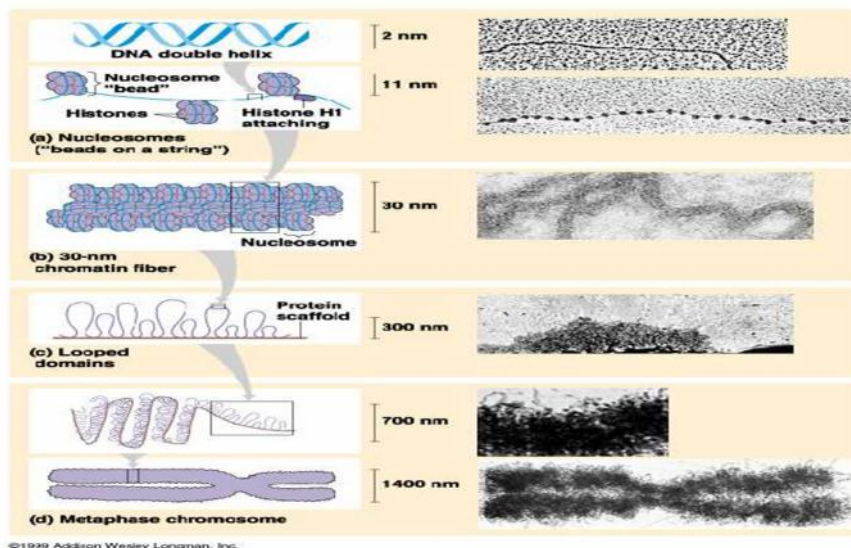


Figura 2.9. Niveles de empaquetamiento del ADN.

## Bibliografía

- Alberts, Bray, Lewis, Raff, Roberts, Watson (1994). *Molecular biology of the cell*. Tercera edición, Garland Publishing.
- Armando G. (2006). *Fundamentos de bioquímica estructural*. Segunda edición. Pag. (261)
- Avers Ch.J. (1983). *Biología celular*. Segunda edición. Grupo Editorial Iberoamérica.
- Bohinski R.C. (1991). *Bioquímica*. Quinta edición. Addison-Wesley Iberoamericana.
- Burke J. (1996). Making your mark. *Scientific American*, October.
- Carlson S. (1998). Spooling the stuff of life. *Scientific American*, September.
- Caskey C., Thomas M.D. (1993). Molecular medicine, a spin-off from the helix. *Jama* 269 (15).
- Cox Timothy M., Sinclair J. (1998). *Biología molecular en medicina*. Editorial Medica Panamericana.
- Crick F., Watson J. (1953). A structure for the deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171 (737).
- Curtis H. (1985). *Biología*. Cuarta edición. Editorial Panamericana.
- De Robertis y De Robertis (1991). *Biología celular y molecular*. Undécima edición (1986), Editorial El Ateneo.
- Dennis B., Bruce A. (2006). *Essential Cells Biology*. 2<sup>nd</sup> Edition. (186)

- Dorothy B. (2008). DNA *Changing Science and society*
- Dickerson R. E. (1983). The DNA helix and how it is read. *Scientific American*, December.
- Eigen M., Gardiner W., Schuster P., Winkler-Oswatitsh R. (1981). The origin of genetic information. *Scientific American*, April.
- Fredman, Dill, Hayden, McGillivray (1997). National medical series for independent study, genetics. Segunda edición. Williams & Wilkins The Science of Review.
- Karp Gerald (1987). *Biología Celular*. Segunda edición. McGraw Hill. *Las moléculas de la vida. Investigación y Ciencia*, edición en español de *Scientific American*, Prensa Científica, num. 111 (diciembre de 1985).
- Landregren U., Kaiser R., Caskey C. T., Hood L. (1988). DNA diagnostics-molecular techniques and automation, *Science*, vol. 242: 229-237.
- Lederberg J. (1993). What the double helix (1953) Has Meant for Basic Biomedical, Science, A Personal Commentary. *Jama* 269 (15), 1981-1985.
- Lewin B. (1994). *Genes V*. Oxford University Press.
- Passarge E. (1995). *Color atlas of genetics*. Thieme.
- Stephenson W.K. (1985). *Introducción a la bioquímica*. Octava edición, Texto Programado, Limusa.
- Suzuki D.J., Griffiths A.J.F., Miller J.H., Lewontin R.C. (1992). *Genética*. Cuarta edición. Interamericana/McGraw Hill.
- Vasudevan D. M., Kannan V., Sreekumari S. (2011). *Textbook of Biochemistry for Medical Students*. Cuéllar Ayala.
- Ville C.A. (1985). *Biología*. Séptima edición. Interamericana.
- Watson J.D., Gilman M., Witkowaki J., Zoller M. (1991). *Recombinant DNA*. Segunda edición. Scientific American Books, W.H. Freeman and Company.
- Weinberg R.A. (1985). The molecules of life. *Scientific American*, October.
- Wolfe (1993). *Molecular and cellular biology*. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California.

Información en línea

<sup>1</sup> <http://www.gene.com/ae/AB/WYW/wkbooks/SFTS/sidebar> (2)

<sup>2</sup> <http://www.bis.med.jhmi.edu/Dan/DOE/html>

<sup>3</sup> <http://www.gene.com/ae/AB/GG/rna.html>

<sup>4</sup> <http://www.res.bbsrc.ac.uk/molbio/index.html>

<sup>5</sup> <http://www.prosci.uci.edu/kinemages/kinpage.html>

<sup>6</sup> <http://www.accessexcellence.com>

<sup>7</sup> <http://encarta.msn.com> © 1997-2000 "Human Genome Project", Microsoft ® Encarta ® online Encyclopedia 2000.

<http://www.geneuve.com>

<http://www.genetech.com>

## MUTACIÓN

En la genética el término mutación se refiere a cambios en el material genético que incluyen: alteración de la secuencia de nucleótidos, deleciones cromosómicas y alteraciones en el número cromosómico. Todos los organismos pueden sufrir mutaciones, si este cambio ocurre en nucleótidos particulares puede resultar en un aminoácido diferente y esta modificación altera seriamente las propiedades de una proteína. Debido a este tipo de errores se presentan diversos fenotipos respecto a un mismo carácter. En general, para la biología una mutación es un evento de gran importancia debido a que este es uno de los fenómenos que han posibilitado la evolución y a su vez dado origen a la gran diversidad de especies existentes en la naturaleza (animales y plantas). Además de aportar a la evolución, las mutaciones permiten las diferencias entre los individuos de una misma especie, por lo tanto, podemos decir que cada ser es un experimento único de la naturaleza, con excepción de algunos casos minoritarios como el de los gemelos monocigóticos, los cuales, poseen el genotipo idéntico y las diferencias entre ellos son causadas por el ambiente; estas personas tienen diferente fenotipo pero un mismo genotipo.

Las mutaciones ocurridas en las células germinales dan origen a cambios heredables en la estructura y en la información y salvo algunas excepciones no son hereditarias cuando ocurren en tejido somático.

Todos los organismos sufren cierto número de mutaciones como resultado de errores en los procesos celulares normales o de interacciones aleatorias con el medio ambiente, tales cambios se llaman mutaciones espontáneas (Cuadro 3.1), son impredecibles y, aunque poco, probables se acumulan en las poblaciones, en otras palabras, aunque las mutaciones particulares son poco frecuentes existe una gran variedad de ellas de manera que podemos observar con cierta frecuencia más de algún tipo mutante.

Organismo	Mutación	Valor	Unidades
<i>Bacteriófago T2</i> (Virus bacteriano)	Inhibición de la lisis $r \rightarrow r^+$	$1 \times 10^{-8}$	} Tasa: genes mutantes por replicación
	Rango de hospedadores $h^+ \rightarrow h$	$1 \times 10^{-9}$	
<i>Escherichia coli</i> (Bacteria)	Fermentación de la lactosa $lac \rightarrow lac^+$	$2 \times 10^{-7}$	} Tasa: células mutantes por división celular
	Auxotrofia para histidina $his^- \rightarrow his^+$	$4 \times 10^{-8}$	
	$his^+ \rightarrow his^-$	$2 \times 10^{-10}$	

Cuadro 3.1. Tasas o Frecuencia de mutación en en fago T2 y en E. coli

### Tipos de mutaciones

Las mutaciones son de muy diversos tamaños y naturaleza. Una mutación **génica** (llamada así porque no son visibles al microscopio) con cambios en el ADN que comprenden desde una base hasta secuencias de varios genes. Las mutaciones que alteran en el número o estructura de los cromosomas se llaman **mutaciones cromosómicas**, mientras que múltiplos del número cromosómico total de cada especie se llaman **genómicas**. Abordaremos con cierto detalle cada una de ellas.

**Mutación génica.** Por sus características este tipo de mutación puede ser llamada de diferentes maneras: las mutaciones génicas de una sólo base incluyen: *deleciones* (pérdida de una base), *adiciones* (adición de una base) y *sustituciones* (se sustituye una base por otra). Todas ellas producen alteraciones en la composición del triplete. Las sustituciones cambian el sentido del triplete: unidad de codificación del ADN. Las adiciones o inserciones conducen a un desfasamiento del marco de lectura y, como consecuencia, los tripletes no son leídos correctamente: se cambia todo el mensaje. La consecuencia es la producción de una proteína no funcional o simplemente no hay producción de proteína. El siguiente caso ilustra lo mencionado:



HOY SOY AMO DEL SOL

cada palabra representa un triplete

HOY SYA MOD ELS L

efecto de una deleción de O

HOY SOY PAM ODE LSO L

efecto de una inserción de P

HOY SOY AMA DEL SOL

efecto de una sustitución O por A

En el último caso se clasifican en transiciones y transversiones. Las **transiciones** son errores en las bases ADN en las que una purina (base con dos anillos) es sustituida por otra purina o una pirimidina por otra pirimidina. En las **transversiones** una purina es sustituida por una pirimidina o viceversa (Figura 3.1).

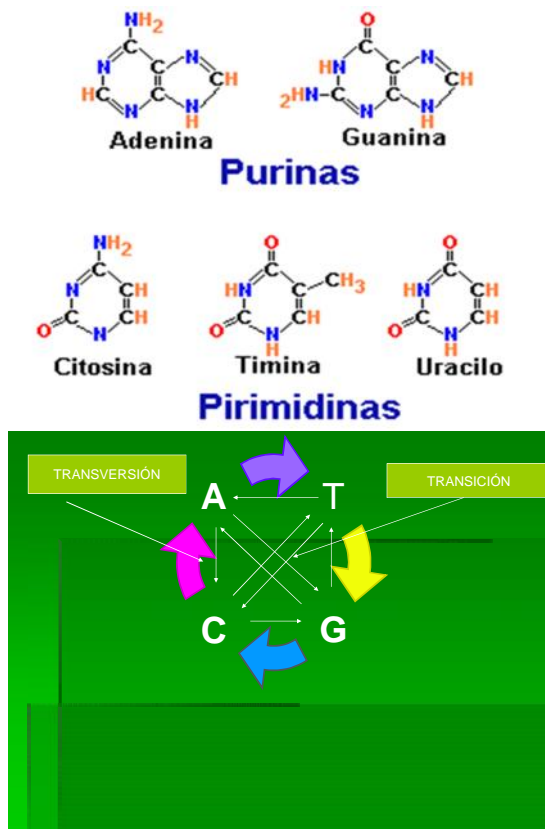


Figura 3.1. (A) Estructura de la bases nitrogenadas purinas y pirimidinas. (B) Esquema que ilustra el tránsito de bases nitrogenadas. Las líneas internas indican las mutaciones de transición, las externas las mutaciones de transversión.

La mutación puede ocurrir como resultados de errores fortuitos en las cadenas del ADN, sin embargo, algunos agentes químicos o biológicos suelen producirlas también y con altas frecuencias. En la figura 3.2 se observa el mecanismo molecular de una mutación inducida.

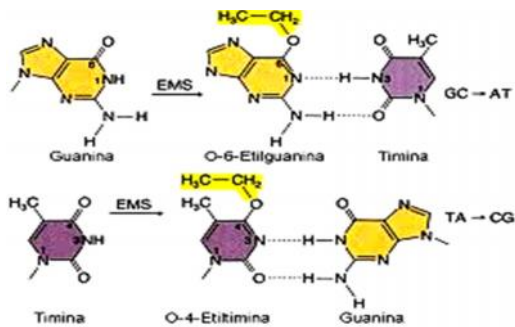


Figura 3.2. Acción química del etilmetanosulfonato (EMS) sobre bases nitrogenadas. El EMS actúa sobre el doble enlace del oxígeno en la guanina y la timina e induce la unión del oxígeno con cadenas carboxílicas. En el primer caso la guanina (que normalmente se aparea con citosina) forma o-6-etilguanina que se aparea con tiamina. Todo lo anterior conduce a la introducción de un apareamiento erróneo. Similar situación se presenta para la timina.

Las mutaciones de las que se describieron tienen diversas consecuencias como se observa en el cuadro 3.2

Los efectos de una misma mutación son distintos dependiendo del gen en el que ocurrió y el tipo de célula. En ocasiones una mutación puntual ocurre en genes cuyo producto génico resultante no compromete la existencia del individuo. En otras ocasiones los efectos pueden ser devastadores. Existen también ciertos puntos en donde la mutación ocurre con mayor frecuencia de los esperados, a estas zonas se les conoce como puntos calientes. El estudio realizado por Jeffrey Miller y sus colaboradores en el gen de *lacI* demostró ciertos puntos "calientes" resultado de secuencias repetidas. En la Figura 3.3 se observa la frecuencia de mutación espontánea en el gen *lacI*.

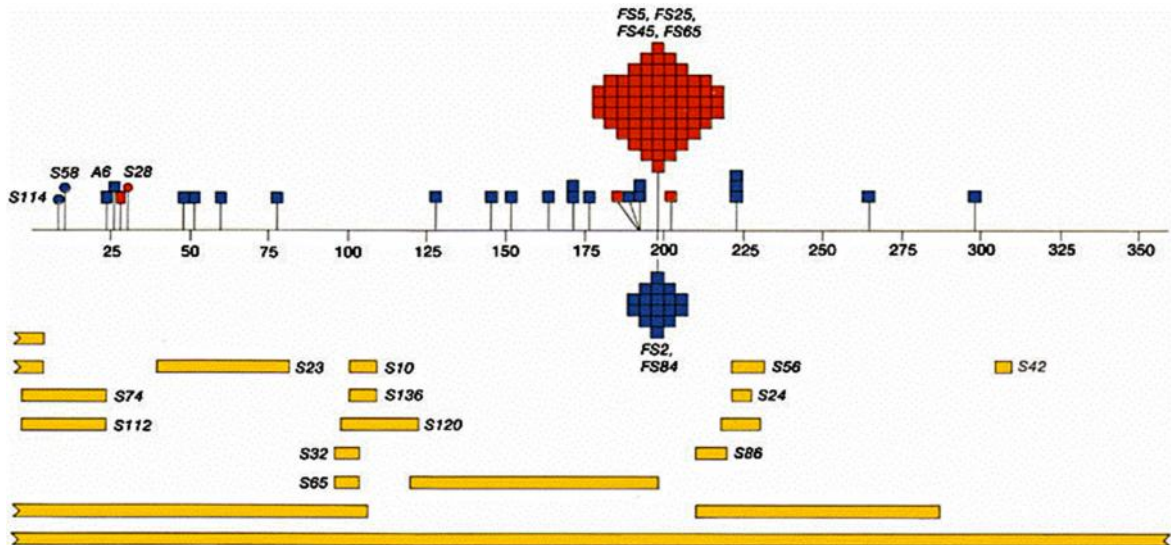


Figura 3.3. Distribución de la mutación espontánea en el gen *lacI*. Los cuadros representan las mutaciones ocurridas. Como se observa, en ciertas regiones la frecuencia es notablemente superior. La región coloreada en naranja representa mutaciones de reversión rápida. Debajo del mapa de *I* se representan las deleciones. Tomado de P.J. Farabaugh, U Schmeissner, M. Hofer y J. H. Miller, *Journal of molecular biology* 126, 1978, 847)

Los errores en la replicación ocasionan mutaciones puntuales que alteran el marco de lectura. Estas mutaciones ocurren con frecuencia en secuencias repetidas. En la figura 3.4 se presenta un modelo para explicar los cambios de fase durante la síntesis del ADN.

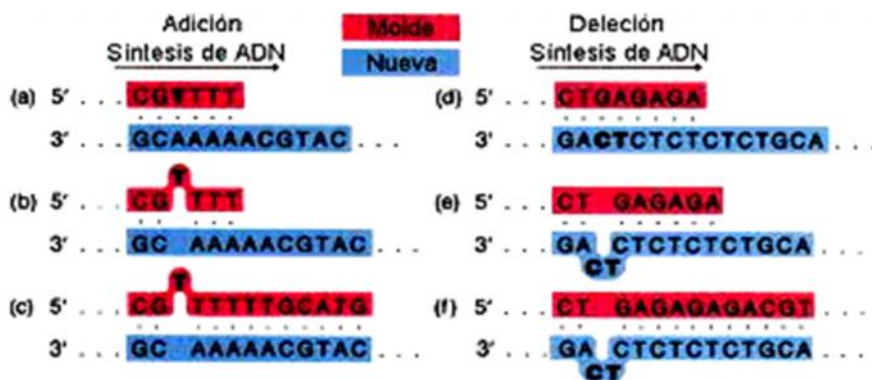


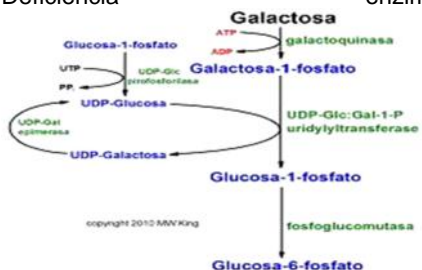


Figura 3.4. Las cadenas representan la síntesis del ADN. La cadena molde en rojo es la plantilla para la síntesis de una nueva cadena (en azul). En el primer caso, izquierda, en la cadena molde ocurre un pliegue en el segundo caso, derecha, el pliegue ocurre en la nueva cadena.





En las deleciones y duplicaciones ocurren cambios que van desde unas cuantas bases hasta miles y, también, ocurren con frecuencia y suelen presentarse como resultado de secuencias repetidas (Figura 3.5).

Lugar (Nº de pb)	Secuencia repetida	Nº de bases delecionadas	Sucesos
20 to 95	GTGGTGAA	75	2 S74, S112
146 to 269	GCGGCGAT	123	1 S23
331 to 351	AAGCGGCG	20	2 S10, S136
316 to 338	GTCGA	22	2 S32, S65
694 to 707	CA	13	1 S24
694 to 719	CA	25	1 S56
943 to 956	G	13	1 S42
322 to 393	Ninguno	71	1 S120
658 to 685	Ninguno	27	1 S86

Figura 3.5. Secuencias analizadas en 1978 por Miller y colaboradores. Deleción de *lacI*. Las regiones coloreadas representan las secuencias repetidas, la ruptura suele darse como se muestra en las barras: se una incluye la frecuencia repetida y la sección intermedia. Se observan otras secuencias estudiadas por Miller. (Tomado de P. J. Farabaugh, U. Schemeissner, M. Hofer y J. M. Miller, Journal of Molecular Biology 126,1978, 847)

Las mutaciones génicas conducen a fenotipos diversos que van desde una deficiencia hasta situaciones que comprometen la vida de un organismo. En el cuadro 3.1 se presentan algunas enfermedades genéticas y se ilustra la relación con la mutación.

Nombre de la enfermedad y características fenotípicas	Tipo de mutación	Fenotipo
<b>Galactosemia.</b> Caracterizada por la incapacidad de descomponer la galactosa de la lactosa.	Deficiencia enzimática 	
<b>Albinismo.</b> Pérdida de la capacidad de síntesis de la melanina.	Deficiencia enzimática de la tirosinasa o bien utilización errónea de la tirosina.	

<p><b>Fenilcetonuria.</b> Incapacidad de metabolizar la fenilalanina.</p>	<p>La fenilalanina hidroxilasa alterada ya acumulación de la fenilalanina.</p> <div style="text-align: center;">  <p>Fenilalanina hidroxilasa</p> </div>	<p>La fenilalanina juega un papel en la producción corporal de melanina, el pigmento responsable del color de la piel y del cabello. Por lo tanto, los niños con esta afección usualmente tienen un cutis, cabello y ojos más claros que sus hermanos o hermanas sin la enfermedad.</p>
<p><b>Hemofilia.</b> Deficiencia en la coagulación sanguínea.</p>	<p>Alteración del sistema de complemento causada por una reducción en la cantidad o en la actividad del factor VIII de coagulación.</p>	
<p><b>Distrofia muscular de Duchene.</b> Pérdida de la capacidad de movimiento al iniciar la pubertad.</p>	<p>Pérdida o alteración de la síntesis de distrofia debido a la delección total o parcial del gen DMD localizado en el brazo corto del cromosoma X (región Xp 21). La distrofina provoca el pronto deteriora de la membrana de las fibras musculares.</p>	
<p><b>Xeroderma Pigmentoso.</b> Alteración del sistema de reparación del ADN y aparición de cáncer de piel tras la exposición a la luz ultravioleta.</p>	<p>Defecto en el proceso de escisión y reparación ADN.</p>	

Cuadro 3.2. Enfermedad génica, etiología y características de las enfermedades producidas.

**Mutación cromosómica.** La mutación cromosómica consiste en la alteración del número o estructura de los cromosomas. La modificación de la estructura cromosómica se realiza de dos maneras: el material cromosómico puede aumentarse o disminuirse de manera significativa dentro de un mismo cromosoma (duplicaciones y delecciones) o bien, el material genético puede localizarse sin modificar la cantidad total de material genético (inversiones y translocaciones) Analicemos primero los cambios en la estructura.



Deleciones. Una deleción consiste en la pérdida de un trozo de cromosoma y puede implicar fragmentos, incluso, imperceptibles al microscopio o hasta la pérdida de casi todo el cromosoma. Un fragmento cromosómico puede perder funcionalidad y permanecer en el citoplasma como pequeños cuerpos llamados micronúcleos. En otras ocasiones el fragmento se inserta en otro cromosoma, este tipo de movimiento se llama translocación. En la figura 3.6 se pueden presentar varios casos de deleción, duplicación y translocación.

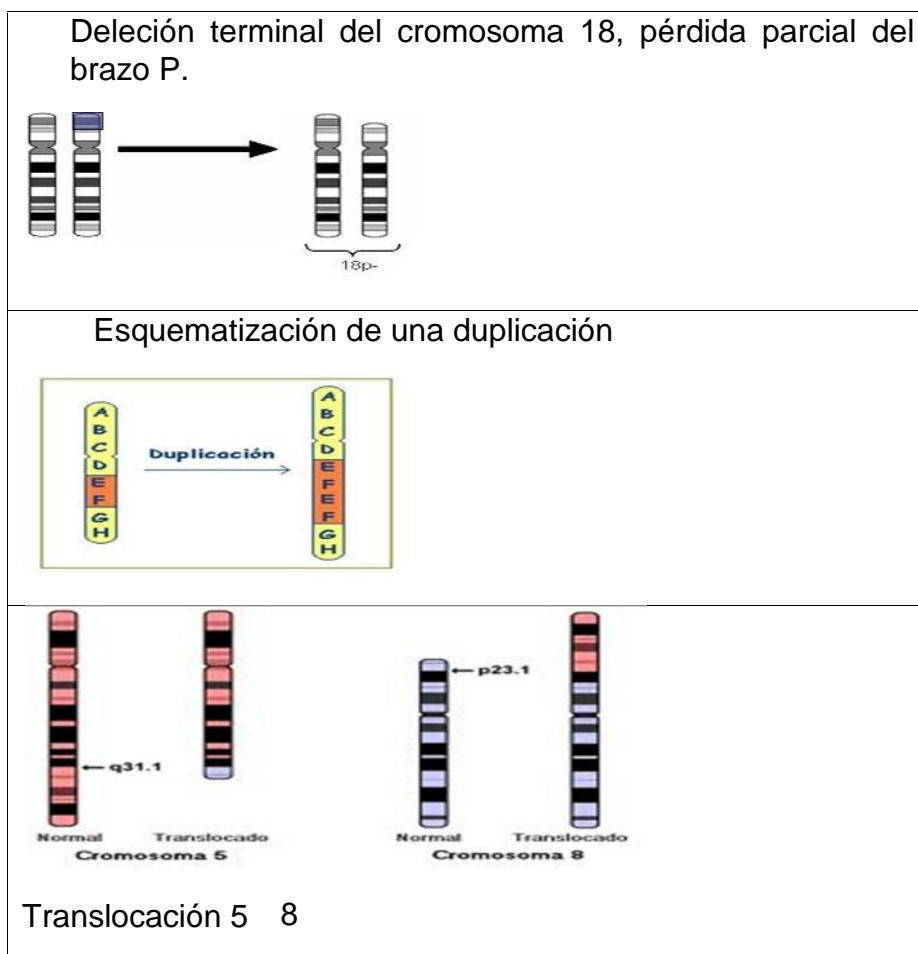

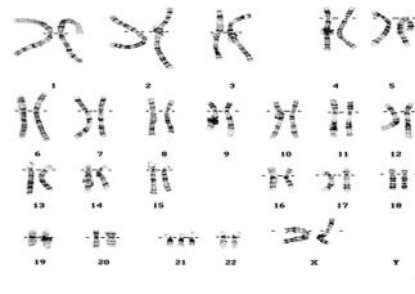
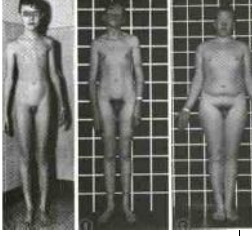
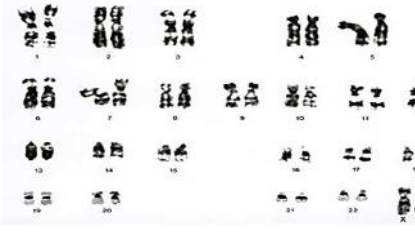

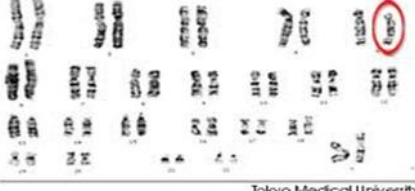


Figura 3.6. Tipos de deleciones cromosómicas.

En algunas enfermedades genéticas se observan los fenómenos mencionados en la figura 3.6. Los efectos que causan las pérdidas cromosómicas estarán en función de los genes que se pierden. En la figura 3.7 se muestran varias enfermedades debidas a mutación cromosómica.

Figura 3.7. Etiología de algunas enfermedades cromosómica y caraterísticas de la misma.

Enfermedad cromosómica	Caraterísticas	etiología	Cariotipo
Síndrome de Down		Retraso mental Características mongoloides	
Síndrome Klinefelter		Suelen ser altos Voz femenina Retraso mental sin ser una regla	
Síndrome del maullido de gato		Llanto similar al maullido de gato, iris del ojo que asemeja los ojos de gato.	

Cuando la mutación cromosómica implica la pérdida o ganancia de un cromosoma se le llama aneuploidia: monosomía (síndrome de Turner 45, X0) cuando hay una sola copia del cromosoma y triploidía cuando hay tres (47 XY + 21). Aunque las monosomias son frecuentes en humanos en las plantas son más viables

La forma como se originan las monosomías se debe generalmente al fenómeno llamado no disyunción durante la mitosis o la meiosis. En el caso de las trisomias (2+n) se produce un desequilibrio cromosómico y puede generar alguna anomalía o incluso la muerte.

La anomalía cromosómica se puede originar también por algún error durante las divisiones mitóticas del cigoto produciéndose así los casos de mosaicismo en la que el organismo contiene células con distintos números de

cromosomas. Estas células constituyen dos o más líneas celulares, cada una derivada de una célula madre.

**Mutaciones genómicas.** La poliploidía es un ejemplo más de las mutaciones cromosómicas, estas afectan al número cromosómico por números completos (genomios o cromosomas). Los organismos normales tienen en sus núcleos dos juegos de cromosomas, los cuales son diploides ( $2n$ ); sin embargo en la naturaleza existen descendientes que tienen un número mayor de juegos cromosómicos ósea que tienen más de dos juegos de cromosomas que el número diploide ( $2n$ ) básico normal; a este fenómeno se le conoce como poliploidía.

Las mutaciones genómicas son incompatibles con la vida de los animales, sin embargo; son frecuentes en plantas y esta vía constituye una exitosa vía de evolución.

Por el tipo de células en donde ocurren las mutaciones se pueden clasificar como somáticas y germinales.

**Mutación somática.** Ocurre en un tejido somático en desarrollo dando origen a un conjunto de células idénticas, todas ellas provenientes de la célula original en la que ocurrió la mutación. Este grupo de células idénticas que provienen asexualmente de la célula progenitora recibe el nombre de clon y pueden ocasionar la muerte celular localizada, una función celular alterada o tumores. Cuando las mutaciones ocurren en la etapa temprana del desarrollo de la célula darán origen a un mayor número de células mutantes, contrario a lo que ocurrirá en la etapa tardía y nunca son heredables.

**Mutación germinal.** Las mutaciones en células germinales ocurren en un tejido que en última instancia dará lugar a células sexuales. Se originan en algunas de las divisiones mitóticas o meióticas de la gametogénesis. No influyen en el fenotipo de la célula o el individuo que la sufre, ni en la capacidad reproductora de este, pero la mutación es heredable, transmitiéndose a todas las células del organismo hijo y generando, en su caso, la alteración o enfermedad hereditaria. Son habitualmente acontecimientos esporádicos, minoritarios y relativamente frecuentes.

La mutación, según el campo que afecta, se puede clasificar de diversas formas:

**Morfológicas.** Afectan a las características visibles de un organismo tales como la forma, el color o el tamaño.

**Letales.** Se reconoce por sus efectos sobre la supervivencia del organismo.

**Condicionales.** El mutante expresa su fenotipo en determinadas condiciones un ejemplo claro ocurre en *Drosophila*, en la cual, se conoce una clase concreta de mutaciones denominada: letal dominante sensible al calor. Los heterocigotos H+H son normales a 20° C pero mueren a 30°.


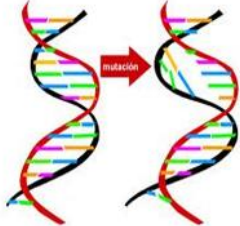

**Mutaciones bioquímicas.** Se identifican por la pérdida o variación de alguna función bioquímica.

**Mutaciones de resistencia.** Estas mutaciones confieren a la célula u organismo mutante la capacidad para crecer en presencia de algún inhibidor específico o de un patógeno que bloquea el crecimiento de los tipos silvestres.

**Hipomórfica.** Determina alguna medida fenotípica menor que la correspondiente al silvestre. Los **hipermórficos** tienen un exceso con respecto al tipo silvestre.

**Amorfos.** Algunas mutaciones crean alelos cuyo fenotipo es la ausencia completa de cierta función silvestre.

En el cuadro 3.3 se pueden observar algunos ejemplos de estas mutaciones

Nombre genérico de la mutación	Consecuencia	Fenotipo
Morfológica	Afectación de la estructura morfológica, por ejemplo, cambio de la forma de las alas en <i>Drósophila melanogaster</i>	 <p>Alas curly curvas      alas normales</p>
Bioquímica	Cambios en la función molecular de proteínas como enzimas. Algunas enzimas pueden tener funciones deficientes y alterar los productos bioquímicos.	
Letal	Cambios muy diversos que conducen a la muerte de un organismo. En ocasiones impiden inclusive la concepción del organismo. Se presenta un ejemplo de mutación incompatible con la vida.	

Cuadro 3.3. Nombre genérico de algunas mutaciones y consecuencia de las mismas.



## **Bibliografía**

- Albert L.A. (1988). *Curso básico de toxicología ambiental*. Noriega Editores, México.
- Alvarez MC (2001). *Genética Ambiente y Salud*. Editorial Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.
- Benjamin A. (2009). *Genetics: a conceptual approach*. Third Edition. Editorial Médica Panamericana.
- Bartréz F.D., Redolar D.R, (2011). *Bases genéticas de la conducta*, Primera edición, Editorial UOC.
- Griffiths J.F., Miller J.H., Suzuki D.T., Lewontin R.C y Gelbart W.L. (1995). *Genética*. Interamericana y McGraw-Hill, Madrid.
- Herráez A. (2012). *Biología molecular e ingeniería genética*. 2ª edición. Editorial Elsevier.
- Li A.P. y Heflich R.H. (1991). *Genetic toxicology*. CRC Press, Boston. Estados Unidos.
- Robbins y Cotran. (2010). *Patología estructural y funcional*. 8ª edición. Editorial Elsevier Saunders.
- Ruiz R. (2006). *Conocimientos Fundamentales De Biología*. Editorial Pearson Educación.
- Salamanca F. (1990). *Citogenética humana*. Editorial Médica panamericana, México.
- Thomson J.S. (1986). *Genetics in medicine*. W.B.Saunders, Tokio.
- Thomson&Thomson (2008). *Genetics in Medicine*. 7a edition.
- Van D. (2005). *Agapornis*. Editorial Hispano Europea.
- Vogel F.y Motulsky A.G. (1982). *Human genetic*. Springer- Verlag, Berlin-Heidelberg-Nueva York.

## MUTÁGENOS FÍSICOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS

El desarrollo de las sociedades modernas se caracteriza por el uso de una gran cantidad de sustancias químicas; las personas interactúan con ellas y se incrementa el riesgo de padecer enfermedades provocadas por tales sustancias, el cáncer es una de estas enfermedades.

Los organismos tienen una tendencia inherente a sufrir cambios de un estado hereditario a otro (Suzuki *et al.*, 1992). Los genes, como portadores de la información genética, tienen la capacidad de sufrir alteraciones ocasionales, las cuales pueden ser heredadas de una manera estable y predecible (Lewin, 2000), estos cambios explican las variaciones hereditarias y la diversidad que se encuentran en el mundo biológico y que forman las bases de la evolución (Guízar, 1994). La selección natural es la causa inmediata o proximal de un cambio evolutivo, lo que surge como consecuencia de la existencia simultánea de la variación heredada en forma estable y el exceso reproductivo de las poblaciones; es una manifestación de la estabilidad del material genético y replicación, transmisión y utilización de una generación de células y organismos a la siguiente (Wiley, 1990).

Las alteraciones genéticas pueden ser heredadas o producidas en alguna célula ya sea por un virus o por una lesión provocada de manera externa. El cáncer es, en esencia, un proceso genético; una serie de mutaciones secuenciales que conduce a la malignización de una única célula que se multiplica; además ciertos factores son capaces de provocar cáncer en individuos expuestos a ellos, entre estos se encuentran los virus, las radiaciones y productos químicos, así como las alteraciones del sistema inmunológico y la herencia (Guízar, 1994; Thompson *et al.*, 1996; Lewin, 2000).

Por otra parte el desarrollo embrionario y fetal puede ser alterado por diversos factores como: radiaciones, calor, sustancias químicas e infecciones maternas. Las anomalías congénitas también pueden ser causadas por una alteración genética del feto, o por la acción conjunta de un agente teratógeno y una alteración genética, alrededor de un 10% de las anomalías congénitas

son causadas por factores externos. Diferentes infecciones padecidas por una gestante también pueden lesionar al feto; la más típica, la rubeola, puede producir retraso mental, ceguera y/o sordera en el recién nacido; sin embargo, la vacunación de niñas y adolescentes evita que se produzca la infección durante los futuros embarazos de esas mujeres. Otras infecciones que pueden dañar al feto si se producen durante la gestación son la varicela, la toxoplasmosis y la infección por citomegalovirus, entre otras (Fitz Gerald, 1980; Guízar, 1994).

En 1969, en respuesta al gran interés por investigar la actividad mutagénica de las sustancias químicas ambientales, se formó la Sociedad de Mutagénesis Ambiental (Wiley, 1990) desde entonces se han instrumentado una gran variedad de ensayos, tanto *in vivo* como *in vitro*, para estudiar la genotoxicidad de diferentes agentes. Entre estos ensayos o metodologías tenemos: pruebas con *Drosophila melanogaster*, prueba de Ames en bacterias, cultivos de células, análisis de cariotipos, clonación de genes bacteriales, transfección, enzimas de restricción, reacción en cadena de la polimerasa, hibridación de ácidos nucleicos, pruebas citogenéticas e intercambio de cromátides hermanas (Ashby, 1989; Wiley 1990). Desde 1979, el interés y los objetivos de la mutagenesis ambiental fueron claramente enfocados en tres áreas: la definición del rango de efectos producidos en humanos por los mutágenos, el desarrollo de métodos confiables para la detección de los mismos y la elucidación de mecanismos de daño cromosómico y mutación génica (Wiley, 1990).

Las ciencias de la salud ambiental incluyen disciplinas enfocadas al descubrimiento de las interacciones ordinarias entre el humano y diversos agentes químicos, físicos y biológicos que son dañinas a la salud; existen diferentes centros de investigación y educativos, así como empresas que se han dedicado al estudio de estas ciencias. El Centro para las Ciencias de la Salud Ambiental (CEHS) es un centro de investigación multidisciplinaria del colegio Whitaker de Ciencias de la Salud y Tecnología en el Instituto Tecnológico de Masachussetts; las actividades de este centro están enfocadas al estudio de los agentes responsables en nuestro ambiente de los cambios genéticos en el humano. La investigación en el CEHS está organizada en tres

programas: los de calidad del aire y del agua, dedicados al estudio del comportamiento de los tóxicos químicos en el ambiente natural, con particular énfasis en los procesos que llevan a la exposición humana y el programa de toxicología y epidemiología, que se encarga de estudiar las causas del cambio genético que provoca enfermedades al humano.

Una empresa que se dedica a realizar estudios de este tipo es NuChemCo, la cual ha trabajado en los campos de inspección ambiental y salud ocupacional en los últimos 15 años; su principal actividad es el muestreo de campo y evaluación de exposiciones a materiales peligrosos, realiza diversos tipos de actividades de monitoreo de escapes y exposiciones peligrosas a agentes químicos, físicos o biológicos. Algunos de los materiales más analizados incluyen formaldehído, pesticidas, solventes orgánicos, vapores de plomo, carcinógenos, teratógenos y mutágenos, además de materiales más comunes como productos del petróleo, cloro y monóxido de carbono; también proporcionan guías ambientales, de higiene industrial y consultas de seguridad para almacenamiento de desechos, clínicas, laboratorios, procesos de manufactura y producción, así como áreas de almacenamiento y recepción.

*Mutación.* Aunque la replicación del ácido desoxirribonucleico (ADN) es muy precisa, no es perfecta; pueden producirse errores y, como consecuencia, el nuevo ADN contendrá uno o más nucleótidos cambiados. Un error de este tipo, que recibe el nombre de mutación, puede tener lugar en cualquier zona del ADN; si esto se produce en la secuencia de nucleótidos que codifica en un polipeptido particular, éste puede presentar un aminoácido diferente en la cadena polipeptídica y esta modificación puede alterar seriamente las propiedades de la proteína resultante. Cuando se produce una mutación durante la formación de los gametos, ésta se transmitirá a las siguientes generaciones (Suzuki *et al.*, 1992; Thompson *et al.*, 1996; Lewin, 2000).

Una mutación es una variación espontánea o inducida del genoma, un cambio en el material hereditario. Las mutaciones cambian la estructura y la información heredada de los antecesores, y *secuencia de ADN* (Guízar, 1994; Thompson *et al.*, 1996; Lewin, 2000). Las mutaciones fueron descritas por primera vez en 1901 por uno de los re descubridores de Mendel, el botánico

alemán Hugo De Vries. En 1929 el biólogo estadounidense Herman Joseph Muller observó que la tasa de mutaciones aumentaba considerablemente con los rayos X. Más tarde se descubrió que otras formas de radiación, así como las temperaturas elevadas y varios compuestos químicos, podían inducir mutaciones (Suzuki *et al.*, 1992).

De particular interés para la mutagénesis es el resultado del daño oxidativo del ADN, las formas reactivas de oxígeno tienen diferentes orígenes, tanto exógenos como intracelulares; los orígenes ambientales de radicales de oxígeno (superóxido [O<sub>2</sub><sup>-</sup>] y radicales hidroxilo [OH]) y otras especies reactivas (por ejemplo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) incluyen algunos mutágenos y carcinógenos muy conocidos (como radiación ionizante, peróxidos orgánicos y quinonas). Se han identificado más de 100 diferentes lesiones al azúcar y las bases del ADN por radicales del oxígeno producidos por rayos X o rayos  $\gamma$ ; otros estudios de carcinogénesis indican un papel importante del daño oxidativo endógeno al ADN, el cual está balanceado por elaborados sistemas de defensa y reparación (Wiley, 1990).

Las lesiones del ADN que escapan a la reparación tienen cierta probabilidad de ocasionar mutaciones, la efectividad de una lesión depende de su reparación y del rango de división celular del tejido, esto determina la probabilidad de convertir las lesiones al ADN en mutaciones. Una división celular continua incrementa la probabilidad de ocurrencia de mutaciones y, por lo tanto, el cáncer. Los rangos de división celular están influenciados por niveles hormonales, crecimiento, citotoxicidad e inflamación y disminuye con restricción calórica o se incrementan con altas dosis de químicos. Cuando el rango de lesiones en el ADN y la división celular están incrementados habrá un efecto multiplicativo en la mutagénesis y carcinogénesis (Ames *et al.*, 1993; Ames y Gold, 1999).

Todos los organismos sufren cierto número de mutaciones como resultado de los procesos celulares normales o de interacciones aleatorias con el medio ambiente; tales mutaciones se llaman **espontáneas** y son impredecibles, producidas en ausencia de un mutágeno conocido. El rango en el cual ocurren es característico para cada organismo en particular. Por otra parte, una

mutación **inducida** es aquella que se produce como consecuencia de la exposición a una sustancia mutagénica (Lewin, 2000). El rango de mutación de un gen usualmente se expresa como el número de nuevas mutaciones por locus por generación, el rango medio de mutación de un gen es de aproximadamente  $1 \times 10^{-6}$  mutaciones por locus por generación (Thompson *et al.*, 1996).

Los resultados de una mutación pueden variar desde indetectables hasta letales (Lewin, 2000); un cambio nucleotídico o mutación en un gen pueden llevar a la formación de una proteína variante, otros cambios en el ADN pueden no tener efecto fenotípico debido a que el cambio no altera la secuencia de aminoácidos de un polipéptido o por que el cambio resultante en la secuencia de aminoácidos ocurre en una región no crítica del péptido; muchas proteínas normalmente existen en dos o más formas relativamente comunes, genéticamente y estructuralmente diferentes, situación que se conoce como *polimorfismo* (Guízar, 1994; Thompson *et al.*, 1996). Una enfermedad genética es la más obvia y, a menudo, la más extrema manifestación de un cambio genético dentro de un panorama de variabilidad genética enteramente normal (Thompson *et al.*, 1996), sin embargo, algunas actividades humanas y ciertos factores, como la exposición a radiaciones fotónicas y corpusculares, los rayos X, los materiales radiactivos y compuestos químicos, así como sustancias mutágenas, son responsables del aumento de las mutaciones (Guízar, 1994).

A la carga heredada de mutaciones de nuestros ancestros se añaden las mutaciones que el individuo acumula durante su existencia, ya sea por mutación espontánea o por mutágenos físicos, químicos o biológicos. Como se mencionó, las mutaciones pueden ser originadas por mecanismos normales que tienen las células para duplicar o reparar el ADN, o bien por qué agentes físicos como radiaciones producen formas tautoméricas de las bases que originan transiciones o transversiones. También pueden producirse mecanismos de desaminación de las bases debido a sustancias químicas que interaccionan con las bases produciendo los cambios descritos. Actualmente se conocen varios mecanismos moleculares de la acción de los mutágenos respecto a los mutágenos biológicos, por ejemplo, han sido de especial



importancia los cambios en el ADN que producen los virus, ya que pueden activar oncogenes (Guízar, 1994).

**Mutágenos.** La ocurrencia de mutaciones puede incrementarse debido al tratamiento o a la exposición a ciertos compuestos llamados mutágenos, y los cambios que ocasionan son mutaciones inducidas (Lewin, 2000). Un mutágeno es un *agente causante de que las mutaciones ocurran con una frecuencia superior a la espontánea*, incrementa el rango de mutación espontánea al causar cambios en el ADN (Suzuki *et al.*, 1992; Ames *et al.*, 1993; Guízar, 1994; Thompson *et al.*, 1996; Lewin, 2000). Se ha demostrado la existencia de mutágenos ambientales en diferentes espacios de desarrollo del humano (Kleinsasser *et al.*, 2000). Además, las células están expuestas naturalmente a muchos agentes mutágenos de origen tanto endógeno como exógeno; en 1947, Aurbach y Robson descubrieron el primero (gas mostaza) de los muchos cientos de mutágenos químicos que ahora se conocen (Wiley, 1990). Los mutágenos son sustancias o agentes que pueden ocasionar cambios en el material genético de las células vivas; aproximadamente la mitad de los mutágenos son carcinógenos (Gold *et al.*, 1993), un ejemplo de mutágeno y carcinógeno en estudio es el acetaldehído (Wang *et al.*, 2000).

La potencia de un mutágeno se juzga por el grado en que incrementa el rango de mutación por arriba del espontáneo, muchos mutágenos actúan directamente por su capacidad de afectar una base del ADN en particular o bien por ser incorporados al ácido nucleico (Lewin, 2000). Algunos agentes ambientales actúan como mutágenos y causan mutaciones somáticas y éstas, a su vez, son responsables de carcinogénesis. De acuerdo con estimaciones basadas en datos de las consecuencias de los bombardeos atómicos de Hiroshima y Nagasaki, alrededor del 75% del riesgo de cáncer puede tener origen ambiental (Guízar, 1994), existe un periodo de latencia de cinco años para el desarrollo de leucemia y de hasta 40 años para algunos tumores (Thompson *et al.*, 1996).

Los mutágenos se dividen principalmente en agentes físicos, químicos y biológicos. Al primer grupo le corresponde principalmente la radiación, y en el segundo se incluyen numerosos agentes con propiedades farmacológicas y

terapéuticas que también pueden ser carcinógenos (aflatoxina, aminobifenilo, arsenicales, asbesto, auramiruro de vinilo, cromo, dietilelbestrol, fenacetina, fenitolina, gas mostaza, hollín isopropilos, melfalán, metilcolantreno, naftilamina, níquel, nitrosaminas, oximetalonas, radón, azatioprina) (Henderson *et al.*, 1993; Guízar, 1994; Zúñiga *et al.*, 1996). Los medicamentos utilizados en quimioterapia antineoplásica llegan a producir leucemias u otros padecimientos secundarios al tratamiento de neoplasias (Kapadia *et al.*, 1980; Pedersen *et al.*, 1981; Ratain *et al.*, 1987). Por otra parte, mezclas de quimioterapia y radioterapia producen anomalías cromosómicas (Pedersen-Bjergaard, 1981; Le Beau *et al.*, 1986) y la combinación de drogas quimioterapéuticas pueden producir cáncer (Ratain *et al.*, 1987).

En la base de datos de potencial carcinogénico (CPDB) se puede consultar una comparación de órganos blancos para mutágenos y no mutágenos para 351 carcinógenos en roedores, con evaluaciones de mutagenicidad en *Salmonella*. Estos datos llevan a varios resultados: una alta proporción de mutágenos y no mutágenos induce tumores en bioensayos con roedores, y los mutágenos comparados con los no mutágenos tienen: a) más probabilidad de ser carcinogénicos; b) más probabilidad de inducir tumores en múltiples sitios, y c) más probabilidad de ser carcinógenos en dos especies. Mutágenos y no mutágenos inducen tumores en una gran variedad de sitios y muchos órganos son sitios blancos para ambos; el 79% o más de los carcinógenos (mutágenos o no) son positivos en al menos uno de los ocho sitios blanco frecuentes: hígado, pulmón, glándula mamaria, estómago, sistema vascular, riñón, sistema hematopoyético y vejiga (Gold *et al.*, 1993).

**Mutágenos físicos.** La radiación eleva las probabilidades de eventos mutacionales al ocasionar rompimientos, arreglos y/o distorsión de la cadena de ADN al alterar las bases (dímeros de timina), bloqueando así futuras replications. Los rayos ultravioleta, X y lesionan al ADN de diferentes maneras; la luz ultravioleta introduce varios tipos de lesiones al ADN, de los cuales los dímeros de pirimidina son foto productos implicados en muerte celular y mutagénesis debido a que los foto productos pueden ser removidos del ADN por mecanismos de reparación; el rango y la eficiencia de la remoción es crítico para el nivel de inducción de mutación por luz ultravioleta (Wiley,

1990). Otras lesiones por radiación incluyen la creación de sitios apurínicos o apirimidínicos por eliminación de las bases correspondientes, pueden producirse rupturas en las cadenas sencillas o dobles o entrecruzamiento entre ellas (Murray *et al.*, 1992).

La principal importancia de las radiaciones ionizantes radica en que tiene acción mutágena por su capacidad de producir aberraciones cromosómicas visibles (como rupturas o translocaciones cromosómicas) o bien a nivel génomico (Guízar, 1994). En la década de 1920 Hermann Muller descubrió que los rayos X causaban cambios genéticos en la mosca de la fruta. Mediante rayos X, pudo crear mutaciones de *Drosophila* que podía utilizar en sus estudios genéticos (Neila *et al.*, 2007). La radiación es más dañina en personas con defectos en sus sistemas de reparación del ADN, y el riesgo es mayor para niños menores de 10 años y ancianos (Thompson *et al.*, 1996). Podemos estar expuestos a algún grado de radiación ionizante por exposición médica (Sakahara *et al.*, 1992), energía nuclear, etc., sin embargo, aún existe gran incertidumbre acerca de la magnitud de los efectos de la radiación, especialmente a bajos niveles (Guízar, 1994).

Debido a que la excesiva exposición a radiaciones ionizantes puede incrementar el riesgo de cáncer, los rayos X, muy utilizados en medicina y odontología, están ajustados para emitir la menor dosis posible sin sacrificar la calidad de la imagen, pero aun así se han encontrado efectos dañinos. Los efectos biológicos de una misma dosis de radiación varían en forma considerable según el tiempo de exposición, los que aparecen tras una irradiación rápida se deben a la muerte de las células y pueden hacerse visibles pasadas horas, días o semanas. Una exposición prolongada se tolera mejor y es más fácil de reparar, aunque la dosis radioactiva sea elevada; no obstante, si la cantidad es suficiente para causar trastornos graves, la recuperación será lenta e incluso imposible; la irradiación en pequeña cantidad, aunque no mate a las células, puede producir alteraciones a largo plazo (Heddle *et al.*, 1978; Waldren *et al.*, 1986; Collins y Allen, 1992; Fucic *et al.*, 1992; Sakahara *et al.*, 1992).

La radiación absorbida se mide en grays (1 gray equivale a 1 julio de energía absorbido por kilogramo de material; su símbolo es Gy); con dosis superiores a 1 Gy se produce una reducción significativa del número de células sanguíneas como consecuencia del daño a la médula ósea, lo que conduce a un aumento de la susceptibilidad a las infecciones, la presencia de hemorragias y anemia. La experiencia obtenida tras las exposiciones de las bombas atómicas en Hiroshima y Nagasaki y tras otros accidentes con fuentes radioactivas, pruebas con armas nucleares y plantas que emplean energía nuclear, ha permitido obtener conclusiones importantes (Schull, 1983).

La radiación de redes o tendidos eléctricos, radares, canales o redes de comunicación y hornos de microondas no es ionizante; durante mucho tiempo se ha creído que este tipo de radiación es perjudicial sólo en cantidad elevada y que produce quemaduras, cataratas, esterilidad temporal, etc. Con la proliferación de este tipo de mecanismos, comienzan a ser materia de investigación científica las posibles consecuencias de una exposición prolongada a pequeñas cantidades de radiaciones no ionizantes y, aunque se desconoce por el momento que repercusión tienen sobre la salud, se han observado algunas consecuencias biológicas; se han realizado estudios acerca del efecto de los campos magnéticos sobre diferentes tipos de células, pero aún existe controversia acerca de su acción mutagénica y de su posible efecto sinergista con otros mutágenos físicos o químicos (El Nahas y Oraby, 1989; Fucic *et al.*, 1992; Ansari y Hei, 2000; Maes *et al.*, 2000).

**Mutágenos químicos.** Los mutágenos químicos ocasionan inestabilidad general que produce cambios químicos en el ADN; cambian químicamente las bases, con lo que causan errores de apareamiento.

Debido a que la transformación maligna es secundaria a mutaciones, no debería de sorprender que la mayoría de carcinógenos químicos sean mutagénicos. En efecto todos los carcinógenos directos y finales contienen grupos electrofilos muy reactivos que forman aductos químicos con ADN, y también con proteínas y ARN (Vinay, 2008).

Existen diferentes tipos de mutágenos químicos: los agentes alquilantes son un grupo de sustancias químicas que alquilan (por ejemplo, metilan o etilan) las

bases de los ácidos nucleicos. Todos los nitrógenos y oxígenos de las bases pueden ser alquilados, y la alquilación guía a diferentes productos (Wiley, 1990); algunos ejemplos de agentes alquilantes son: ifosfamida, melfalán, thiotepa, clorambucil, busulfán (Kirkland, 1993). Se ha demostrado que el daño al ADN producido en hojas de tabaco por algunos agentes alquilantes no puede ser reparado y persiste por más de cuatro semanas (Gichner *et al.*, 2000). Otro tipo de mutágenos químicos son los análogos de base como 6-mercaptopurina, arabinosa-c (Zúñiga *et al.*, 1998), clastógenos como ciclofosfamida (Kirkland, 1993) y colchicina (Zúñiga *et al.*, 1998), aneuploidógenos (Asano *et al.*, 1989), etc. estas sustancias ocasionan diversas alteraciones, como rompimientos cromosómicos, aneuploidías, inserciones equivocadas por similitud con las bases, etc. (Lewin, 2000). Otros mutágenos químicos son: gas mostaza, etilmetano sulfonato, fenol, formaldehído, 5 bromouracilo, methotrexate, hexano y otras sustancias químicas (Heddle *et al.*, 1978; Scott *et al.*, 1991; Kasahara *et al.*, 1992; Egeli *et al.*, 2000). Los mutágenos químicos pueden encontrarse también como componentes de la dieta, carcinógenos industriales y desechos tóxicos (Guízar, 1994), el furano, solvente de resinas y lacas, componente del *smog* y cigarrillos (Wilson, 1992), así como los insecticidas (Herrera, 1992) y pesticidas (Antonucci y Syllos, 2000; Garaj-Vrhovac y Zeljezic, 2000).

Un ejemplo de la acción de los mutágenos químicos sobre el ADN es el ácido nitroso, el cual, desarrolla una desaminación oxidativa que convierte la citosina en uracilo y la adenina en guanina, ocasionando futuros errores en la replicación del ADN (Figura 1). Algunos mutágenos son análogos de bases con propiedades de apareamiento ambiguas (como el bromouracilo) y su acción mutágena resulta de su incorporación al ADN en lugar de una de las bases regulares produciendo futuras rupturas en la hebra de ADN (figura 2) (Lewin, 2000).

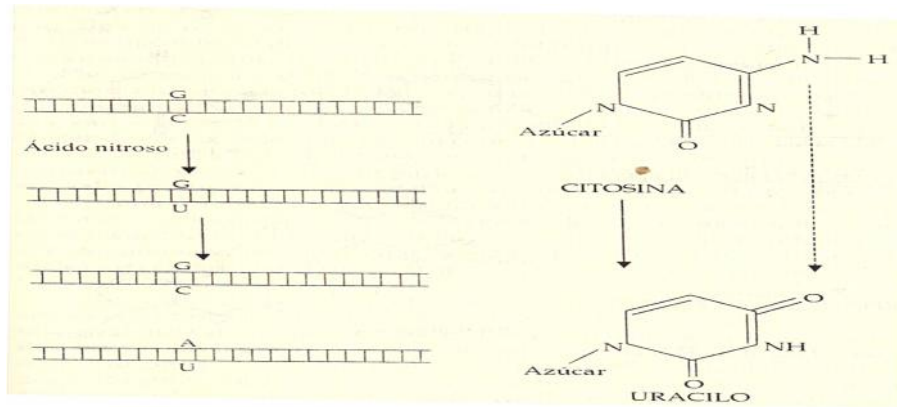


Figura 4.1. Las mutaciones pueden ser inducidas por la modificación química de una base. El ácido nitroso desamina oxidativamente la citosina a uracilo. La replicación genera una cadena duplex hija con el par original G-C, pero la otra tiene un par A-U, el cual es replicado para dar pares A-T en subsecuentes generaciones

La creación de sitios apurínicos o apirimidícos por eliminación de las bases correspondientes es otro tipo de lesiones producidas tanto por radiación como por mutágenos químicos como el óxido de propileno (Murray *et al.*, 1992; Rios-Blanco *et al.*, 1995).

El proceso por el que los productos químicos producen cáncer ha sido ampliamente estudiado; algunos actúan como iniciadores que sólo requieren una exposición, pero el cáncer no aparece hasta pasado un largo periodo de latencia y tras la exposición a otro agente denominado promotor. Los iniciadores producen cambios irreversibles en el ADN, los agentes promotores no producen alteraciones en el ADN pero sí un incremento de su síntesis y una estimulación de la expresión de los genes, su acción sólo tiene efecto cuando ha actuado previamente un iniciador y cuando actúan de forma repetida. El humo del tabaco, por ejemplo, contiene muchos productos químicos iniciadores y promotores, su actuación como promotor es tal, que si elimina el hábito de fumar el riesgo de cáncer de pulmón disminuye en forma rápida. Existen diversos estudios acerca de la actividad genotóxica del tabaco (Doolittle *et al.*, 1990; Livingston *et al.*, 1990), incluyendo el riesgo para los fumadores pasivos (Zhang, 2000). Debido a todos estos datos en el futuro se exigirán más pruebas para detectar mutágenos químicos (Prival y Dellarco, 1989).



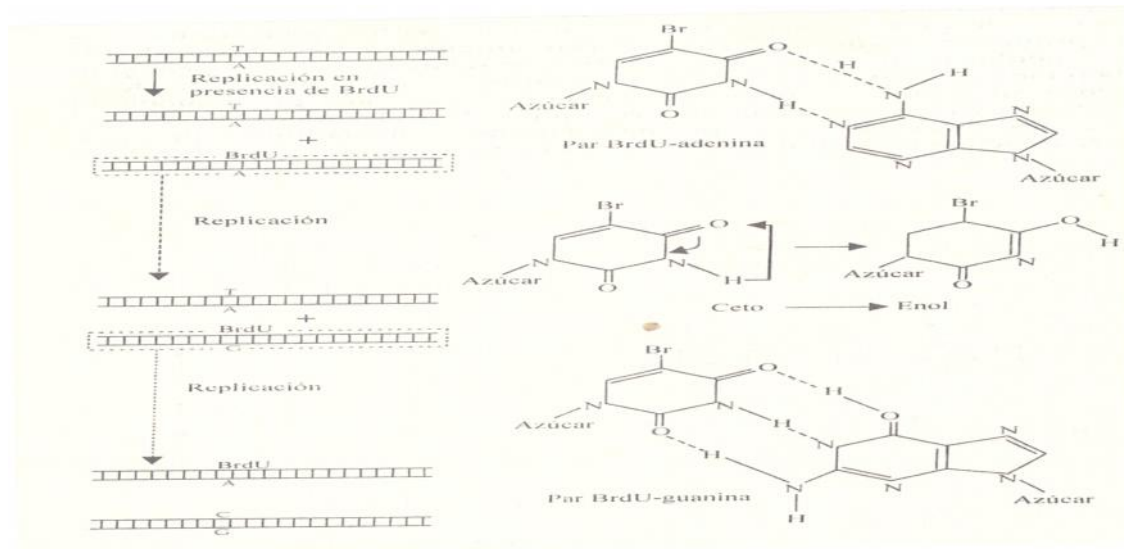


Figura 4.2. Las mutaciones pueden ser inducidas por la incorporación de un análogo de base ADN. El bromulacilo contiene un átomo de Br en lugar del grupo metil de la timina y puede aparearse con guanina y adenina, si se incorpora al ADN el resultado será que pares T-A sean reemplazados por pares C-G.

**Mutágenos biológicos.** Respecto a los mutágenos biológicos, son especial importancia los cambios en el ADN que producen los virus, y aunque se conoce muy poco de esta relación, se han reportado desde simples rompimientos cromosómicos hasta pulverización total del complemento cromosómico. Los virus son la causa de muchos cánceres en animales; por ejemplo, en el ser humano el virus de Epstein-Barr se asocia con el linfoma de Burkitt, el carcinoma nasofaríngeo y los linfopiteliomas, el virus de la hepatitis B está relacionado con el hepatocarcinoma, el virus herpes simple (tipo 2) y varios tipos de papilomavirus humano han sido implicados en el cáncer de cérvix, estos virus están constituidos por ADN. El virus HTLV (human T-cell leukemia virus), sin embargo, está formado por ARN (retrovirus), y como la mayor parte de los virus asociados a tumores en animales produce una leucemia humana debido a que en presencia de una enzima denominada transcriptasa reversa induce a la célula infectada a producir copias en el ADN de los genes del virus, que de esta manera se incorporan al genoma celular. Estos virus de ARN contienen un gen denominado oncogén viral capaz transformar las células normales en células malignas (Murray *et al.*, 1992; Shah y Howley, 1996; Lewin, 2000).

Los virus se insertan en el ADN hospedero debido a que poseen enzimas de restricción (éstas tiene la capacidad de romper el ADN en una secuencia de bases específica). Las inserciones y deleciones pueden activar protooncogenes cuando éstos quedan cerca de una región o de otro gen que tiene una replicación o expresión continua o amplificada, los protooncogenes pueden ser activados por mutaciones puntuales, translocaciones, inserciones retrovirales o amplificación (Guízar, 1994; Thompson *et al.*, 1996; Lewin, 2000). Los oncogenes son genes que afectan el crecimiento y desarrollo normal de las células, fueron originalmente identificados como genes portados por virus que provocaban transformación en sus células blanco. Los oncogenes portados por polyoma y adenovirus especifican proteínas que inactivan los genes supresores de tumor, muchos de los oncogenes identificados en tumores humanos han resultado estar relacionados con oncogenes virales (Thompson *et al.*, 1996; Lewin, 2000).

Los transposones son secuencias de ADN capaces de insertarse en una nueva localización en el genoma, algunos de ellos eucarióticos están relacionados con retrovirus. También pueden moverse de un organismo a otro, generando mutaciones por su inserción (Ruffin, 2000). Los retrotransposones, así como secuencias genómicas (ADN dúplex), pueden transponerse (cambiar de lugar) dentro del genoma (Lewin, 2000). Los retrovirus se integran al genoma celular después de ser sintetizados como ADN por la transcriptasa reversa. La integración es promovida por la actividad de integrasa viral, los retrovirus que portan oncogenes inducen tumores y transformación de células, los que se integran en la vecindad de un oncogén pueden activarlo (Nevins, 1996). Una variedad de cambios genómicos pueden activar oncogenes, algunas veces involucrando un cambio en la secuencia blanco en sí y otras activándola sin cambiar el producto proteico; muchas líneas celulares de tumor tienen regiones visibles de amplificación (mostradas como regiones homogéneamente teñidas o cromosomas dobles minutos), la región amplificada puede incluir un oncogén; *c-myc*, *c-abl*, *c-myb*, *c-erbB*, *c-K-ras* y *mdm2* son ejemplos de oncogenes que son amplificados en varios tumores (Lewin, 2000).

## Referencias

- Ames B.N., Shigenaga M.K., Gold L.S. (1993). DNA lesions, inducible DNA repair, and cell division: Three key factors in mutagenesis and carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives* 101 (suppl. 5): 35 – 44.
- Ames B.N., Gold L.S. (1996). Cell division and DNA lesions are key factors in mutagenesis, carcinogenesis, and cancer prevention. *Encyclopedia of cancer*. J.R. Bertino, ed., Orlando FL. Academic Press. 2: 1120-1128.
- Ansari R.M., Hei T.K. (2000). Effects of 60 Hz extremely low frequency magnetic fields (EMF) on radiation-and chemical-induced mutagenesis in mammalian cells. *Carcinogenesis* 21 (6): 1221-1226.
- Antonucci G.A., DeSyllos Colus I.M. (2000). Chromosomal aberrations analysis in a Brazilian population exposed to pesticides. *Teratog Carcinog Mutagen* 20 (5): 265-272.
- Asano N., Morita T., Watanabe Y. (1989). Micronucleus test with colchicine given by intraperitoneal injection and oral gavage. *Mutat. Res.* 223 (4): 391-394.
- Asby J. (1989). Origins of current uncertainties in carcinogen/mutagen screening. *Environ. Mol. Mutagen.* 14 (suppl. 16): 51-59.
- Bali D., Singh J., Singh H., Kler R. (1995). In vitro and in vivo genotoxicity evaluation of hormonal drugs. I. Hydrocortisone. *Environ. Mol. Mutagen* 16: 150-154.
- Collins B., Howard D., Allen J. (1992). Kinetocore-staining of spermatid micronuclei: studies of mice treated with X-radiation or acrylamide. *Mutat. Res.* 281: 287-294.
- Dhillon V., Singh J., Sing H., Kler R. (1995). In vitro and in vivo genotoxicity evaluation of hormonal drugs. VI. Fluoximesterone. *Mutat. Res.* 342: 103-111.
- Doolittle D., Lee C., Ivett J., Mirsalis J., Riccio E., Rudd C., Burger G., Hayes A. (1990). Comparative studies on the genotoxic activity mainstream smoke condensate from cigarettes which burn or only heat tobacco. *Environ. Mol. Mutagen.* 15: 93-105.
- Egeli U., Tunca B., Tuncel P., Kahraman M., Sevinir B., Cecener G., Batmaz H., Akpinar G., Cimen C., Cangul T., Bilaloglu R. (2000). Genotoxic, hematotoxic, pathological, and biochemical effects of hexane on swiss albino rats. *Teratog Carcinog Mutagen.* 13: 107-111.
- El Nahas S.M., Orabi H. (1989). Micronuclei formation in somatic cell of mice exposed to 50-Hz electric fields. *Environ. Mol. Mutagen.* 13: 107-111.
- Fitzgerald (1980). *Embriología humana. Un enfoque regional*. Harla, México.

Fucic A., Garaj-Vrhovac V., Skara M., Dimivtrovic B. (1992). X-rays microwaves and vinyl chloride monomer: their clastogenic and aneugenic activity, using the micronucleus assay on human lymphocytes. *Mutat. Res.* 282: 265-271.

Garaj-Vrhovac V., Zeljezic D. (2000). Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay. Pesticide genotoxicity revealed by comet assay. *Mutat. Res.* 469 (2): 279-285.

Gichner T., Ptacek O., Stavreva D.A., Wagner E.D., Plewa M.J. (2000). A comparison of DNA repair using the comet assay in tobacco seedlings after exposure to alkylating agents or ionizing radiation. *Mutat. Res.* 470 (1): 1-9.

Gold L.S., Slone T.H., Stern B.R., Bernstein L. (1993). Comparison of target organs of carcinogenicity for mutagenic and non-mutagenic chemicals. *Mutat. Res.* 286: 75-100.

Guízar-Vázquez J. (1994). *Genética clínica*. Segunda edición. El manual Moderno, México.

Heddle J., Lue C., Saunders E., Daniel R. (1978). Sensitivity to five mutagens in Fanconi's anemia as measured by the micronucleus method. *Cancer. Res.* 38: 2983-2988.

Henderson I., Fedyk J., Windebank S., Smith M. (1993). Induction of micronuclei in rat bone marrow and peripheral blood following acute and subchronic administration of azathioprine. *Mutat. Res.* 291: 79-85.

Herrera A., Barrueco C., Caballo C., De la Peña E. (1992). Effect of permethrin on the induction of sister chromatid exchanges and micronuclei in cultured human lymphocytes. *Environ. Mol. Mutagen.* 20: 218-222.

Kapadia S., Krause J., Ellis L., Pan S., Wals N. (1980). Induced acute non-lymphocytic leukemia following long-term chemotherapy. *Cancer* 45, 1315-1321.

Kasahara Y., Wakata A., Nakai Y., Yuno K., Miura D., Yagi K., Hirabashi K., Makita T. (1992). The micronucleus test using peripheral blood reticulocytes from methotrexate-treated mice. *Mutat. Res.* 278, 145-151.

Kirkland D. (1993). Genetic toxicology testing requirements: official and unofficial views from Europe. *Environ. Mol. Mutagen.* 21, 8-14.

Kleinsasser N.H., Weissacher H., Kastenbauer E.R., Dirschedl P., Wallner B.C., Harreus U.A. (2000). Altered genotoxicity in mucosal cells of head and neck cancer patients due to environmental pollutants. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 257 (6), 337-342.

Lang R., Reimann R. (1993). Studies for a genotoxic potential of some endogenous and exogenous sex steroids. I. Communication: Examination for the induction of gene mutations

using the Ames Salmonella/Microsome test and the HGPRT test in v79 cells. *Environ. Mol. Mutagen.* 21, 272-304.

Le Beau M., Albain K., Larson R., Vardiman J., Davis E., Blough R., Golomb H., Rowley J. (1986). Clinical and cytogenetic correlations in 63 patients with therapy-related myelodysplastic syndromes and acute nonlymphocytic leukemia: further evidence for characteristic abnormalities of chromosomes No. 5 and 7. *J. Clin. Oncol.* 4, 325-345.

Lewin B. (2000). *Genes VI*. Oxford University Press. Nueva York.

Livingston G., Reed R., Olson B., Lockey J. (1990). Induction of nuclear aberrations by smokeless tobacco in epithelial cells of human oral mucosa. *Environ. Mol. Mutagen.* 15, 136-144.

Maes A., Collier M., Vandonick S., Scarpa P., Verschaeve L., (2000a). Cytogenetic effects of 50Hz magnetic fields of different magnetic flux densities. *Bioelectromagnetics.* 21 (8), 589-596.

Maes A., Collier M., Verschaeve L. (2000b). Cytogenetic investigations on microwaves emitted by a 455.7 MHz car phone. *Folia Biol (Praha)* 46 (5), 175-180.

Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. (1992). *Bioquímica de Harper*. Doceava edición. El manual moderno, México. 61, 661-674.

Nagae Y., Miyamoto H., Suzuki Y., Shimizu H. (1991). Effect of estrogen on induction of micronuclei by mutagens in male mice. *Mutat. Res.* 263, 21-26.

Nevins J.R., Vogt P.K. (1996). Cell transformation by viruses. En *Virology Fields BN*. Tercera edición. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Vol. 1, 301-344.

Neila C., Jane R. (2007). *Biología. Sexta edición*. Editorial Medica Panamericana. 329-330.

Pedersen-Bjergaard J., Philip P., Mortensen B., Erbsoll J., Jensen G., Panduro J., Thomsen M. (1981). Acute nonlymphocytic leukemia, preleukemia, and acute myeloproliferative syndrome secondary to treatment of other malignant diseases. Clinical and cytogenetic characteristics and results of in vitro culture of bone marrow and HLA typing. *Blood.* 57, 712-723.

Prival M., Dellarco V. (1989). Evolution of social concerns and environmental policies for chemical mutagens. *Environ. Mol. Mutagen.* 14 (suppl. 16), 46-50.

Ratain M., Kaminer L., Bitran J., Larson R., Le Beau M., Skosey C., Purl S., Hoffman P., Wade J., Vardiman J., Daly K., Rowley J., Golomb H. (1987). Acute nonlymphocytic leukemia following etoposide and cisplatin combination chemotherapy for advanced non-small-cell carcinoma of lung. *Blood* 70, 1412-1417.

- Ríos-Blanco M.N., Faller T.H., Nakamura J., Kessler W., Kreuzer P.E., Ranasinghe A., Filser J.G., Swenberg J.A. (2000). Quantitation of DNA and hemoglobin adducts and apurinic/apyrimidinic sites in tissues of F344 rats exposed to propylene oxide by inhalation. *Carcinogenesis* 21 (11), 2011-2018.
- Ruffin D.C., Van Santen V.L., Zhang Y., Voelker L.L., Panangala V.S., Dybvig K. (2000). Transposon mutagenesis of *Mycoplasma gallisepticum* by conjugation with *Enterococcus faecalis* and determination of insertion site by direct genomic sequencing. *Plasmid*. 44 (2), 191-195.
- Sakahara H., Ono K., Saga T., Akuta K., Endo K., Konishi J., Abe M. (1992). Hepatocyte response to continuous low dose-rate radiation in radioimmunotherapy assessed by micronucleus assay. *Int. J. Radiat. Biol.* 62 (4), 443-448.
- Schull W. (1983). Late radiation responses in man: current evaluation from results from Hiroshima and Nagasaki. *Adv. Space Res.* 3, 231-239.
- Scott D., Galloway S., Marshall R., Ishidate M., Brusick D., Ashby J., Myhr B. (1991). Genotoxicity under extreme culture conditions. A report from ICPENC Task group 9. *Mutat. Res.* 257, 147-204.
- Shah K.V., Howley P.M. (1996). Papilloma viruses. En *Virology. Fields BN*. Tercera edición. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Vol.2, 2077-2110.
- Suzuki D.J., Griffiths A.J.F., Miller J.H., Lewontin R.C. (1992). *Genética*. Cuarta edición. Interamericana-McGraw-Hill, España.
- Thompson M.W., McInnes R.R., Willard H.F. (1996). *Genética en medicina*. Thompson & Thompson. Cuarta edición. Masson, Barcelona.
- Vinay k Ramzi S. (2008), *Patología humana*. 8.ª edición. 330-331
- Waldren C.H., Correll L., Sognier M., Puck T. (1986). Measurement of low levels of X-ray mutagenesis in relation to human disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 83, 4839-4843.
- Wang M., McIntee E.J., Cheng G., Shi Y., Villalta P.W., Hecht S.S. (2000). Identification of DNA adducts of acetaldehyde. *Chem. Res. Toxicol.* 13 (11), 1149-1157.
- Wiley J. (1990). *Mutation and the environment. Part. A: Basic mechanisms*. Jhon Wiley, vol.340-A.
- Wilson D., Goldsworthy T., Popp J., Butterworth B. (1992). Evaluation of genotoxicity, pathological lesions, and cell proliferation in livers of rats and mice treated with furan. *Environ. Mol. Mutagen.* 19, 209-222.

Zúñiga G., Torres-Bugarin O., Ramírez-Muñoz M.P., Delgado-Lamas J.L., De Loza-Saldaña R., Cantú J.M. (1996). Micronucleated erythrocytes in splenectomized patients with and without chemotherapy. *Mutat. Res.* 361, 107-112.

Zúñiga-González G., Ramírez-Muñoz M.P., Torres-Bugarín O., Pérez-Jiménez J., Ramos-Mora A., Zamora-Pérez A., Gallegos-Arreola M.P., Sánchez-Corona J. (1998). Induction of micronuclei in the domestic cat (*felis domesticus*) peripheral blood by colchicine and cytosine-arabioside. *Mutat. Res.* 413, 187, 189.



## MUTÁGENOS NATURALES EN PLANTAS Y HONGOS

Desde el inicio de la vida los organismos vivos hemos estado expuestos a sustancias naturales con propiedades tóxicas ampliamente distribuidas en la naturaleza. Conforme ha avanzado la evolución en nuestro planeta se han presentado compuestos más complejos que sus antecesores, un ejemplo son las sustancias tóxicas naturales que son utilizadas por microorganismos, plantas y animales para defenderse de sus enemigos, como una herramienta para capturar presas o como ayuda para competir contra diferentes organismos en la lucha por el espacio de vida (Miller y Miller, 1981).

En la actualidad, los seres vivos estamos expuestos a agentes químicos y físicos, que pueden ser naturales o antropogénicos. Trabajos científicos han demostrado que la exposición a ciertos compuestos químicos pueden modificar el ADN y, por lo tanto producir mutaciones relacionadas con la inducción del cáncer y otras patologías de origen genético.

La fuentes de agentes genotóxicos pueden ser diversas, desde el uso de radiaciones en la medicina, la industria e investigación, el uso de aditivos o la generación de compuestos durante el procesamiento de los alimentos, hasta la presencia de compuestos genotóxicos presentes de forma natural en la dieta humana (Specchio, 2003). Cada día aumenta la evidencia acerca del complejo y multifacético papel que tiene la dieta en la etiología del cáncer (Potter, 1997). Se cree que los compuestos naturales con actividad genotóxica son responsables de cerca de una tercera parte de todos los casos de neoplasias en el mundo (Ferguson, 2002).

Las toxinas de origen natural que producen los animales, las plantas y distintos microorganismos son altamente reactivas y potentes, ya que aún en cantidades extremadamente pequeñas son muy tóxicas (Tabla 5.1), provocando efectos en la bioquímica celular y en la fisiología de los organismos (Ames, 1983).

**Tabla 5.1. Principales compuestos genotóxicos presentes en plantas y hongos**

<b>Fuente</b>	<b>Compuesto</b>
Plantas	Alcaloides
	Hidrazinas
	Compuestos fenólicos
Hongos	Aflatoxinas
	Toxina T-2
	Ocrotolina
	Fumonisin

**Alcaloides.** Los alcaloides son quizás las toxinas vegetales naturales más potentes que se conocen desde el punto de vista genotóxico. Cantidades tales como micromoles (micro = millonésima de la unidad =  $10^{-6}$ ) producen mutaciones puntuales y cromosómicas en los organismos empleados en el bioensayo.

En su definición fundamental, son compuestos heterocíclicos con nitrógeno y, como su nombre indica, sustancias generalmente de carácter básico, aunque existen muchas excepciones. El término abarca sustancias pertenecientes a grupos no relacionados entre sí, de las que se conocen más de 20,000 diferentes, entre cuyos precursores se encuentran varios aminoácidos (Culvenor, 1973).

Según el estado químico del nitrógeno, se definen cuatro grupos: aminas secundarias y terciarias (alcaloides tipo), aminas cuaternarias y N-óxidos (Chen *et al.*, 2010). Se presentan hasta en un 33% de las plantas dicotiledóneas, estando ausentes de la mayoría de las monocotiledóneas (Cheeke, 1994).

Una característica de muchos grupos de alcaloides presentes en las plantas es su sabor amargo, que posiblemente constituye la base para su identificación y

por consiguiente, rechazo de la planta por los herbívoros (Dupont *et al.*, 1994; Chen *et al.*, 2010).

Los alcaloides son estimulantes del músculo liso, como la morfina, la codeína y la tebaína que se encuentran en el opio en un porcentaje promedio de 10% 1,5% y 1% respectivamente (Venegas, 2008).

Existen alcaloides como la pirrolizidina que no son tóxicos por sí mismos en los mamíferos sino que, al ser metabolizados por las enzimas microsomales en el hígado, se convierten en compuestos pirrólicos heterocíclicos que son las toxinas responsables de la mayoría de los efectos patológicos (Jhonson *et al.*, 1985; Hartmann, 1991). La molécula de pirrol se fija al hígado donde causa necrosis, o circula por el torrente sanguíneo causando daños en los pulmones; puede combinarse con moléculas de ADN ocasionando efectos mutagénicos y teratogénicos (Culvenor, 1973; Harborne, 1993; Cheeke, 1988; Cheeke and Palo, 1995).

**Hidrazina.** La hidrazina es un compuesto natural presente principalmente en tabaco, se absorbe rápidamente por la piel o por otras vías de exposición, se distribuye y elimina por la mayor parte de los tejidos. En roedores se ha demostrado que se excreta por la orina en diferentes formas (hidrazina, conjugados lábiles o derivados hidrosolubles por ácidos) (WHO, 1987).

Estudios experimentales en animales de laboratorios han demostrado que la hidrazina posee efectos teratógenos, así mismo, se ha reportado que una exposición a dosis tóxicas induce mutaciones genéticas y aberraciones cromosómicas en diferentes tipos de pruebas (plantas, hongos, bacterias, *Drosophila* y células de mamífero *in-vitro*) (Rogers y Back, 1981), en roedores se ha observado que produce una alquilación indirecta en el ADN hepático y aberraciones cromosómica (Severi *et al.*, 1968).

La exposición por vía inhalatoria puede inducir tumores nasales según se ha reportado en estudios donde utilizaron ratas de la cepa F-344 y hámster dorados sirios; otros estudios donde se administró en agua de beber, la hidrazina indujo una mayor incidencia de tumores pulmonares y hepatocarcinomas (Latendresse *et al.*, 1995).

Los datos que se tienen en seres humanos son limitados, sólo se ha relacionado con efectos al sistema nervioso central, hígado y riñones (Morgenster *et al.*, 2001; Aignera *et al.*, 2010). Aunque los efectos en animales de laboratorios sugieren que pueden tener un efecto teratógico a dosis considerables, es importante tomar en cuenta los datos sobre carcinogenicidad y clasificar a la hidrazina como probable carcinógeno en el humano.

**Compuestos Fenólicos.** Los compuestos polifenólicos constituyen uno de los grupos de antioxidantes naturales más abundantes y ampliamente distribuidos en el reino vegetal, con más de 8000 estructuras polifenólicas conocidas (Dreosti, 2000). Son productos del metabolismo secundario de las plantas y se encuentran en raíces, tallos, troncos, hojas y frutos donde desarrollan funciones diversas que abarcan desde la protección frente a influencias externas (la radiación UV, mordiscos de animales y ataques fúngicos y víricos) a los mecanismos de polinización, el olor, el color y la tolerancia al frío (Stevenson y Hurst, 2007). Los animales no somos capaces de sintetizar este tipo de compuestos, así que dependemos fundamentalmente de la ingesta de productos de origen vegetal para incorporar estas sustancias a nuestro organismo.

Las frutas y bebidas como el café, el té y el vino, contienen importantes antioxidantes fenólicos, tales como los ácidos clorogénico y caféico, en algunos aspectos similares a las epicatequinas y taninos del té o las quercetinas del vino tinto, pero con diferentes estructuras químicas y, por tanto, distintas funciones metabólicas (Richelle *et al.*, 2001).

Los compuestos fenólicos poseen al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos entre ellos, los fenilpropanoides presentan la estructura básica de los fenoles más una cadena tricarbonada como grupo lateral. Los más comunes son los ácidos fenílico, cumárico, caféico y clorogénico, este último es un éster del ácido caféico y el ácido quínico (GFIMA, 1998).

Los compuestos fenólicos de las plantas tienen como propiedades generales las de ser antioxidantes, ejercer efectos quelantes y modular la actividad de varios sistemas enzimáticos, de modo que actúan mayoritariamente en la dieta

como elementos que promueven salud ante factores químicos y físicos estresantes para el organismo (Gee y Johnson, 2001).

Algunas bebidas habitualmente son ricas en compuestos fenólicos; por ejemplo: el café contiene entre 200-500 mg por taza; el té, entre 150-200 mg por taza; y el vino tinto, entre 200-800 mg por vaso (Lakenbrink *et al.*, 2000).

Respecto al metabolismo de los polifenoles, se sabe que son absorbidos en diferente grado en el intestino en su forma nativa o modificada. Después son metabolizados en productos detectables en plasma que retienen en parte su capacidad antioxidante y, por último, son excretados, por vía biliar o urinaria (Crespy *et al.*, 2003). Durante el proceso de absorción, los polifenoles son conjugados (metilación, sulfatación y glucuronización) primero en el intestino delgado y después en el hígado. En general los metabolitos de los polifenoles son rápidamente eliminados del plasma lo que indica que es necesario un consumo diario de productos vegetales para mantener altas concentraciones de estos metabolitos en la sangre (Manach *et al.*, 2004).

Los compuestos polifenólicos derivados de las plantas, poseen una amplia variedad de propiedades farmacológicas, los mecanismos de las cuales han sido tema de considerable interés. Se les reconocen propiedades antioxidantes y cada vez hay más evidencias de que podrían interferir en el proceso de desarrollo de tumores malignos (Urquiaga y Leighton, 2000); además, en años recientes se ha documentado que polifenoles como el resveratrol, curcumina y galocatequinas inducen apoptosis en varias líneas celulares. También se ha visto que algunos de estos compuestos causan rotura oxidativa en las cadenas de ADN por sí mismos o en presencia de metales de transición como el cobre (Azmi *et al.*, 2006). La mayoría de los polifenoles de las plantas poseen propiedades antioxidantes y prooxidantes y se ha propuesto que la acción prooxidante podría ser un mecanismo importante a través del cual ejercieran sus propiedades anticancerígenas e inductoras de apoptosis. Los flavonoides, a pesar de ser muy valorados por poseer un amplio espectro de actividades beneficiosas (Middleton *et al.*, 2000), también pueden resultar genotóxicos. Así, por ejemplo, Sahu y Washington (1991) han descrito que la quercitina muestra propiedades genotóxicas *in vitro*. Sin embargo, hay que puntualizar que la

dualidad de actuación antioxidante/prooxidante depende en parte, del rango de concentraciones utilizado (Cemeli *et al.*, 2008). En este sentido, hay estudios que describen que los flavonoides de la dieta a elevadas concentraciones inhiben el crecimiento, agotan el glutatión, disminuyen la viabilidad e inducen rotura del ADN en linfocitos humanos normales y en células transformadas (Duthie y Dobson, 1999).

Los compuestos fenólicos se comportan como antioxidantes y/o pro-oxidantes depende de varios factores como la línea celular o la concentración ensayada. Diversos estudios de protección frente al daño oxidativo del ADN por agentes oxidantes realizados con compuestos de naturaleza flavonoide, mostraron que el efecto protector no se incrementaba al aumentar la concentración utilizada. Este fenómeno podría ser explicado si se tiene en cuenta el efecto pro-oxidante atribuido a los compuestos polifenólicos (Fan y Lou, 2004). El daño en el ADN podría ser el resultado de la acción pro-oxidante de estos compuestos, que a elevadas concentraciones generarían Sustancias Reactivas de Oxígeno (ROS), mientras que a concentraciones bajas no producirían cambios en los niveles intracelulares de ROS. Está bien documentado que los ROS inducen efectos genotóxicos y citotóxicos y esta podría ser la razón del daño genético observado (Rucinska *et al.*, 2007). Este efecto prooxidante de los fenoles podría estar relacionado con su reacción con cationes metálicos, por ejemplo podrían reducir  $Fe^{3+}$  y catalizar la formación del radical hidroxilo. La generación de radicales hidroxilo en las proximidades del ADN se conoce con certeza que causa escisión de las hebras del ADN (Azmi *et al.*, 2006).

**Micotoxinas.** Existen varios tipos de hongos que bajo determinadas condiciones de temperatura y humedad pueden crecer en los ambientes de almacenamiento, transporte o procesamiento de los granos provocando su contaminación con toxinas (Haschek *et al.*, 2002). Las micotoxinas son metabolitos secundarios de los hongos que no son indispensables para su crecimiento y desarrollo. Son compuestos de bajo peso molecular que presentan una variada estructura química y propiedades biológicas (Haschek *et al.*, 2001). Pueden ocasionar cambios patológicos tanto en el hombre como en diferentes especies animales, por ejemplo: inmunotoxicidad, mutagénesis,

teratogénesis, carcinogénesis, toxicidad renal y neurotoxicidad entre otras (O'Brien y Dietrich, 2005).

Debido a su gran variedad de efectos tóxicos, y sobre todo a su extrema resistencia al calor (termorresistencia), la presencia de las micotoxinas en los alimentos es considerada de alto riesgo para la salud humana y de los animales.

*Aflatoxinas.* Son un grupo de aproximadamente 20 compuestos estrechamente relacionados; sin embargo, únicamente cuatro tipos se encuentran normalmente en los alimentos. Son producidos tanto en el campo como en almacenamiento por algunas cepas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*.

Las cuatro principales aflatoxinas han sido subdivididas en los grupos B y G, con base en la fluorescencia azul (Blue) o verde (Green) que presentan bajo la luz ultravioleta, y se denominan AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2. Generalmente, la AFB1 es la de mayor ocurrencia y se presenta en mayor concentración en los productos alimenticios (Méndez et al., 1994). La Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer clasificó a las aflatoxinas en el grupo 1 como sustancias (o mezclas) con alto poder cancerígeno en humanos (FDA., 1977).

*Tricotecenos (T-2).* Son un grupo de compuestos estrechamente relacionados en cuanto a su estructura química molecular, y son producidos principalmente por hongos como *Fusarium graminearum*, *F. verticillioides* y *F. Culmorum* (Langseth y Elen, 1996).

La toxicidad de los tricotecenos es caracterizada por alteraciones gastrointestinales como vómito y diarrea; además, este grupo de micotoxinas son extremadamente tóxicas a nivel celular (citotóxicas) así como altamente inmunosupresoras. Los tricotecenos han sido clasificados en dos grandes grupos: el grupo A, que incluye a la toxina T-2 y a la toxina HT-2; y el grupo B, que incluye al desoxinivalenol (DON), al nivalenol y a la fusarenona X (Langseth y Rundberget, 1999).

A la fecha, se han identificado a poco más de 150 diferentes tricotecenos; sin embargo, la información de su ocurrencia natural en los alimentos es escasa, y generalmente se refiere al desoxinivalenol (vomitoxina), al nivalenol y a la



toxina T-2. La Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer identificó al desoxinivalenol, al nivalenol, y a la fusarenona X en el grupo 3 (Pettersson, 1995).

*Fumonisin*s. Las fumonisinás son un grupo de al menos 15 micotoxinas producidas principalmente por los hongos *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum*, las cuales se encuentran frecuentemente en todas las regiones productoras de maíz a nivel mundial (Marasa, 1996).

Existen al menos tres fumonisinás de ocurrencia natural: se conocen como FB1, FB2 y FB3. La FB1 es siempre la más abundante, seguida por la FB2 y la FB3. Generalmente estas toxinas se encuentran en los alimentos en concentraciones de partes por millón (miligramos por kilogramo). Este tipo de micotoxinas producen una gran variedad de efectos en los animales; leucoencefalomalacia (reblandecimiento de la sustancia blanca del cerebro) en equinos, edema (hinchazón) pulmonar en porcinos, así como toxicidad del riñón (nefrotoxicidad) y cáncer de hígado en ratas. Su efecto en humanos ha sido difícil de determinar; sin embargo, se han asociado con una alta incidencia de cáncer de esófago y con la promoción de cáncer hepático en ciertas áreas endémicas de China (Uneo *et al.*, 1997). Con base en la evidencia toxicológica disponible, la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer clasificó a las fumonisinás B1 y B2 en el grupo 2B (FDA, 1977).

## **Bibliografía**

- Aignera BA., Darsowa U., Grosbera M., Ringa J. (2010). Plötzb S.G. Multiple Basal Cell Carcinomas after Long-Term Exposure to Hydrazine: Case Report and Review of the Literature. *Dermatology*; 221:300–302.
- Ames BN. (1983). Dietary carcinogens and anticarcinogens. *Science* 221: 1256-1264.
- Azmi AS., Bhat SH., Hanif S., Hadi SM. (2006). Plant polyphenols mobilize endogenous copper in human peripheral lymphocytes leading to oxidative DNA breakage: a putative mechanism for anticancer properties. *FEBS Lett* 580(2), 533-538.
- Chen TN., Mei, Fu PP. (2010). *Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids*. *Journal of Applied Toxicology.*, 30(3): 83-196.
- Cheeke PR. (1994). A review of the functional and evolutionary roles of the liver in the detoxification of poisonous plants, with special reference to pyrrolizidine alkaloids. *Vet. Human Toxicol.*, 36: 240-247.
- Cheeke, P.R. and R.T. Palo. (1995). Plant toxins and mammalian herbivores: co-evolutionary relationships and antinutritional effects. In: M. Journet, E. Grenet, M-H. Farce, M. Thériez, C. Demarquilly (Ed.) *Recent developments in the Nutrition of Herbivores*. Proceedings of the IVth International Symposium on the Nutrition of Herbivores pp: 437-456. INRA Editions, Paris.
- Cheeke, P.R. (1988). Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids. *J. Anim. Sci.*, 66: 2343-2350
- Crespy V., Morand C., Besson C., Cotellet N., Vézin H., Demigné C., Rémésy C. (2003). The splanchnic metabolism of flavonoids highly differed according to the nature of the compound. *Am J Physiol* 284, G980-G988.
- Culvenor CC. (1973). Alkaloids. En: GW Butler and RW Bailey (Ed.) *Chemistry and Biochemistry of Herbage*. Vol.1., Academic Press. London. (1973). pp 375-446.
- Dreosti IE. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition* 16(7- 8), 692-694.
- Dupont, M.S., M. Múzquiz, I. Estrella, G.R. Fenwick and K.R. Price. (1994). Relationship between the Sensory Properties of Lupin Seed with Alkaloid and Tannin Content. *J. Sci. Food Agric.*, 65: 95-100.
- Duthie SJ., Dobson VL. (1999). Dietary flavonoids protect human colonocyte DNA from oxidative attack *in vitro*. *Eur J Nutr* 38(1), 28-34.

Fan P., Lou H. (2004). Effects of polyphenols from grape seeds on oxidative damage to cellular DNA. *Mol Cell Biochem* 267, 67-74.

Ferguson LR. (2002). Natural and human-made mutagens and carcinogens in the human diet. *Toxicology* 182 : 79-82.

Food and Drug Administration, USA (1977). "FDA proposed guidelines for aflatoxin", *Cereal foods world*, 22, 532-541.

Gece JM, Johnson IT. 2001. Polyphenolic compounds : Interactions with the gut and implications for human health. *Curr Med Chem*; 8(11):1245-55.

Harborne, J.B. (1993). *Introduction to Ecological Biochemistry*. Academic Press. London.

Haschek, W.M. Gumprecht, L.A. Smith, G. Tumbleson, M.E. y Constable, P.D. (2001). Fumonisin toxicosis in Swine: An overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environmental Health Perspectives* 109(2):251-257.

Haschek WM, Voss KA, Beasley VR. (2002). Selected mycotoxins affecting animal and human health, in *Hand- book of Toxicologic Pathology*, 2nd ed.; Haschek, W. M., Roussex, C.G., Wallig, M. A., Eds., Academic Press: New York; p. 645-698.

Johnson, A.E., R.J. Molyneux and G.B. Merrill. (1985). Chemistry of toxic range plants. *Variation in pyrrolizidine alkaloid content of Senecio, Amsinckia, and Crotalaria species. J. Agric. Food Chem.*, 33: 50-55.

Lakenbrink C, Lapczynski S, Mainwald B. (2000). Flavonoids and other polyphenols in consumer brews of tea and other caffeinated beverages. *J Agric Food Chem*; 48:2448-52.

Latendresse JR, Marit GB, Vernot EH, Haun CC, Flemming CD. (1995). Oncogenic potential of inhaled hydrazine in the nose of rats and hamsters after 1 or 10 hr exposures. *Fundam Appl Toxicol*; 27:33-48.

Langseth W, Elen O. (1996). Differences between barely, oats and wheat in the occurrence of deoxynivalenol and other trichothecenes in Norwegian grain. *J Phytopath*; 144: 113-118.

Langseth W., Rundberget T. (1999). The occurrence of HT-2 toxin and other *trichothecenes* in Norwegian cereals. *Mycopathologia*; 147(3):157-165.

Manach C, Scalbert A, Morand C. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutri* 79, 727-747.

Marasas WF. (1996). Fumonisin: history, world-wide occurrence and impact. *Adv Exp Med Biol*; 392:1–17.

Méndez-Albores A., Arámbula-Villa. G, Del Río-García JC., Moreno-Martínez E. (2004). Aflatoxin-detoxification achieved with Mexican traditional nixtamalization process (MTNP) is reversible. *Journal of the science of food and agricultura*; 84: 1611-1614.

Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. (2000). The effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*; 52:673-751.

Miller EC, Miller JA. (1981). Searches for ultimate chemical carcinogens and their reactions with cellular macromolecules. *Cancer*; 47: 2327- 2345.

Morgenstern H, Ritz B. (2001). Effects of radiation and chemical exposures on cancer mortality among Rocketdyne workers: a review of three cohort studies. *Occup Med*;16: 219–237.

O'Brien E., Dietrich D. (2005). Ochratoxin A: the continuing enigma. *Critical Rev in Toxicol*; 35: 33-60.

Pettersson H. (1995). Trichothecene occurrence in European cereals a review. International Seminar on *Fusarium*. Martina Franca, Italy: May 9-13.

Potter JP. (Ed.), (1997). Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. World Cancer Research Fund American Institute for Cancer Research, Banta Book group, Menasha, USA, 670 pp.

Richelle M., Tavazzi I., Offord E. (2001). Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages prepared per cup serving. *J Agric Food Chem*; 49(7):3438-42.

Rogers AM., Back KC. (1981). Comparative mutagenicity of hydrazine and 3 methylated derivatives in L5178Y mouse lymphoma cells. *Mutat Res*; 89:321–328.

Rucinska A., Kirko S., Gabryelak T. (2007). Effect of the phytoestrogen, genistein-8-C-glucoside, on Chinese hamster ovary cells *in vitro*. *Cell Biol Int* 31(11), 1371-1378.

Sahu SC., Washington MC. (1991). Effects of antioxidants on quercetin-induced nuclear DNA damage and lipid peroxidation. *Cancer Lett* 60, 250-264.

Severi L., Biancifiori C. (1968). Hepatic carcinogenesis in CBA/Cb/Se mice and CB/Se rats by isonicotinic acid hydrazide and hydrazine sulfate. *J Natl Cancer Inst*; 41:331–349.

Specchio JJ. (2003). Hazards from natural origins. In *Food Safety Handbook*; Schmidt RH., Rodrick GE., Eds.; Wiley: Hoboken, NJ; pp 213-231.

Special Expert Committee of the German Federal Institute for Drugs and Medical Advice. (1998). Therapeutic Guide to Herbal Medicines. Washington, DC: Mark Bhrmental Senior Editor; 489.

Stevenson DE., Hurst RD. (2007). Polyphenolic phytochemicals- just antioxidant or much more?. *Cell Mol Life Sci*; 64(22), 2900-2916.

Ueno, Iijima YK., Wang SD., Sugiura Y., Sekijima M., Tanaka T., Chen C., Yu SZ. (1997). "Fumonisin as a contributory risk factor for primary liver cancer: a 3-year study of corn harvested in Haimen, China, by HPLC and ELISA", *Food and chemical toxicology*, 35, 1143-1150.

Urquiaga I, Leighton F. (2000). Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol Res* 33(2), 55-64.

Venegas A. (2008) *Anestesia intravenosa*. 2a. edicion., Editorial medica panamericana. 528p 264-263.

WHO. EHC No. 68: (1987). Hydrazine. Geneva, World Health Organizations.

## ¿ARMAS QUÍMICAS COMO INSUMO AGRÍCOLAS?

### Introducción

El título del presente artículo podría parecer un tanto desconcertante porque menciona a las armas como elementos comúnmente utilizados en la producción de alimentos; sin embargo, es un hecho que la mayoría de los ahora llamados insumos agrícolas fueron descubiertos y empleados en las diferentes conflagraciones del mundo para provocar daño y muerte a los seres vivos.

Los grandes complejos industriales que se justificaron en una economía de guerra, en tiempos de paz no tendrían sentido. Sin embargo, dado que los mismos productos empleados para matar ahora se utilizan como parte de la tecnología para producir alimentos, tenemos las consecuencias como un resultado paralelo de su principal objetivo: la destrucción. Tan es así que los campos agrícolas presentan diferentes niveles de degradación por el uso de los elementos contaminantes como fertilizantes y pesticidas (insecticidas, fungicidas y herbicidas, principalmente). Junto con la degradación de los recursos (suelo, agua y atmósfera), se han presentado daños físicos y muerte de personas que tienen contacto frecuentemente con los mencionados insumos. Esto no debería extrañarnos porque, como se dijo líneas arriba, los insumos tienen como objetivo provocar daños y la muerte a los seres vivos. A continuación se mencionan algunos datos al respecto.

En África existe una planta con propiedades tóxicas llamadas haba negra (*phisystema venenosum*). El tóxico ataca al sistema nervioso central, provoca parálisis y después la pérdida de la voluntad. Los primitivos la usaban para subyugar a las tribus derrotadas, para convertir a los individuos en esclavos sin voluntad (como zombies). Este tóxico fue estudiado por los alemanes, quienes encontraron que el ingrediente activo es una molécula que contiene fósforo. Esta molécula fue sintetizada en laboratorios alemanes por el doctor Gerhardt en la década de los cuarenta; como resultado obtuvieron compuestos organofosforados que, utilizados como arma química, produce efectos similares a los del haba negra. Algunos de sus derivados son el etilparatión y el

metilparatión, utilizados ampliamente hoy como ingredientes activos en insecticidas agrícolas.

Durante la primera guerra mundial los ingleses recibieron una terrible noticia: 15,000 soldados que se encontraban en las trincheras estaban fuera de combate con quemaduras, diarrea, vómitos y ceguera. ¿La razón? Un compuesto organofosforado sintetizado por los alemanes conocido como gas mostaza, diseminado por el viento sobre el ejército inglés.

En la segunda guerra mundial fueron empleadas gran cantidad de armas químicas. A la caída de los alemanes, los ejércitos aliados no permitieron la destrucción de industrias (Bayer, Basf y Hoechst) donde eran fabricadas. Antes bien, mediante el plan Marshal se invirtieron grandes cantidades de dólares en su reactivación y adiestramiento de nuevos técnicos. Gran parte de las industrias y el personal científico pasaron a las naciones vencedoras.

Durante esta misma conflagración, un importante descubrimiento ayudó a producir gran cantidad de explosivos sin depender del nitrato chileno ni el nitrato de bengala (cuya consecución y traslado a través de las líneas enigmáticas representaba para los alemanes fuertes problemas. Esto fué posible gracias a la reducción de la molécula de nitrógeno ( $N_2$ ) existente en la atmósfera a una concentración del 78%. Mediante el proceso de Haber, en que se somete al gas a altas presiones y bajas temperaturas, se logró obtener el gas licuado, por medio del cual se pueden obtener compuestos nitrogenados para diferentes usos (Fleming, 1943), principalmente el nitrato, elemento base de la dinamita o trinitrato de tolueno (TNT).

Durante la guerra de Vietnam entró en acción el *Orange Agent*, un elemento novedoso de combate notoriamente efectivo, que ahorra todo lo concerniente al despliegue de grandes fuerzas armadas, no requiere de sofisticadas estrategias militares y arrasa con todo elemento biológico que encuentra. ¿Su nombre? “2, 4, 5-T más 2, 4, D”, una mezcla de herbicidas que contiene, entre otras, “dioxina”, una de las sustancias más tóxicas que se conocen: produce defectos congénitos, erupciones en la piel, abortos espontáneos, etc. (Restrepo, 1988).

La molécula del DDT fué descubierta en 1867 cuando Zeidler y su grupo trabajaban en la síntesis de colorantes para sustituir al índigo (*Indigosfera sp.*). Como elemento industrial, fué estudiado por los suizos; Paul Müller descubrió



sus propiedades insecticidas (por ello recibió el premio nobel de la paz). Esta sustancia se utilizó en 1939 por los aliados para combatir la garrapata del pubis (transmisora del tifus murino), que por falta de aseo aquejaba a los soldados. El ataque a Italia no se podía consumir a causa de este mal; el DDT fué la solución, los soldados se rociaron con esta sustancia y así el ataque fué posible (Restrepo, 1996).

Durante la guerra del golfo pérsico el mundo estuvo al borde de presenciar un ataque con una modalidad incontrolable: Sadam Husein (y antes Muamar Kadafi) adquirió en Alemania un complejo petroquímico mediante el cual podía fabricar agroquímicos (fertilizantes y pesticidas). Los ejércitos de paz, integrados con la Organización de las Naciones Unidas, se dieron cuenta a tiempo de que en ese complejo se estaba produciendo gran cantidad de agroquímicos con la modalidad de armas letales y de que su uso era inminente. Estas fábricas y sus depósitos fueron los primeros objetivos de los bombardeos; con la destrucción de estos arsenales se evitó un desastre aún más terrible. Sin embargo, las consecuencias no se hicieron esperar, civiles y militares que estuvieron expuestos o en contacto con los residuos de los complejos petroquímicos bombardeados presentaron extraños síntomas, que recuerdan los sufridos por agricultores que utilizan insecticidas en la producción de alimentos. Los veteranos de esa guerra, unos tres mil, están en peligro de engendrar hijos deformes como consecuencia de la exposición a dichas armas químicas.

Durante la década de los ochenta la frontera de nuestro país con Estados Unidos se cerró la exportación del tomate y aguacate mexicano. ¿La razón? Restos de agroquímicos en la fruta. Esta noticia fué para México el epílogo de una historia que inicio un paradigma en la década de los sesenta con el diseño de los llamados sistemas de producción modernos, una historia que desafortunadamente aún no termina. Para el 1986, las estadísticas indicaron que, solo en México, se aplicaron 750 gramos de insecticida per cápita y constantemente se dan a conocer nuevos capítulos, en las que muchos de los actores han dejado de existir por intoxicación con agroquímicos.

Este escenario invita a la reflexión. ¿Cómo se inicia el uso de pesticidas de origen químico en la agricultura? ¿es necesario su aplicación? ¿por qué se

utilizan? ¿Quién restringe o permite su uso? ¿existen alternativas? A estas y otras preguntas se trata de responder en este capítulo.

**El ecosistema y el agroecosistema.** Sin duda la preocupación primaria de los seres vivos heterótrofos ha sido la consecución de alimento. El hombre no ha escapado a la pregunta de qué comer. En el afán de encontrar su alimento, a través del tiempo, se ha visto obligado a explorar su entorno, conocer sus componentes físicos y bióticos, sus cualidades, características y uso. Este conocimiento el hombre lo aplicó en la recolección de segmentos de diferentes vegetales ya fueran hojas, tallos, raíces, flores, semillas o frutos. También aprendió a alimentarse de otros animales que vivían en su entorno, caracterizando así su actividad de consecución de alimento como cazador-recolector, lo que a su vez le significó diversificar la forma de preparar los alimentos para su consumo.

De esta manera, el hombre incrementó el nivel de interrelación con los elementos de su ambiente; con el paso del tiempo, el conocimiento acumulado se enriqueció al grado de reunir un acervo formidable que le ha permitido avanzar hasta llegar incluso a la modificación del entorno. La domesticación de plantas y animales fué una manifestación cultural que permitió a la humanidad dar el salto que facilitó el sedentarismo y con ello la construcción de magnificas civilizaciones (Cano, 1997). La alimentación de una población creciente concentrada en grandes centros urbanos fué posible a la invención de la agricultura como actividad aglutinadora del acervo logrado durante la historia de la humanidad (Flannery, 1973).

La actividad agropecuaria fué la base y el eje del funcionamiento de las culturas prehispánicas, que día a día generaban información y conocimientos para aprovechar mejor el ecosistema. Este conocimiento se incrementó con la llegada de los españoles; los objetivos de la actividad fueron modificados y el aprovechamiento de los recursos naturales se hizo extensivo, con la entrada de la ganadería. La alteración del entorno fué la consecuencia. La modificación antropocéntrica del entorno por la actividad agropecuaria y forestal no ha sido del todo favorable; se han presentado problemas ambientales a partir de la degradación de los componentes físicos y bióticos, provocando lo que se ha

dado en llamar la salud ambiental. El término se asocia con la calidad de un determinado ambiente para propiciar el desarrollo y evolución del elemento biótico que coexiste en dicho ambiente. Lo anterior ha desembocado en la preocupación de los hombres de ciencia, que han propuesto esquemas de estudio para conservar la salud del ambiente ante la severidad del daño. Así fué como nació una rama de la ciencia llamada Ecología, que se define como el estudio de las acciones recíprocas entre sistemas vivos y su ambiente (Turk *et al.*, 1984). De esta definición se desprende a su vez el concepto de ecosistema como unidad funcional de la ecología y que representa la unidad de estudio, con límites en el tiempo y en el espacio, compuesto por elementos bióticos y abióticos interactuando entre ellos y en reciprocidad con el otro.

El ecosistema como unidad, presenta una estructura que le permite la persistencia, continuidad y estabilidad (homeostasis), que incluye una fuente energética (sol) asociada a elementos autótrofos capaces de transformar la energía solar en energía química (productores primarios) , una amplia diversidad de heterótrofos (consumidores: herbívoros y carnívoros) y descomponedores (microorganismos degradadores de la materia orgánica), que en conjunto actúan permitiendo el flujo de energía y ciclos de nutrientes (ciclos biogeoquímicos), que le otorgan al ecosistema cierta estabilidad (dinámica) y persistencia a través del tiempo y a los cambios en las condiciones (Granados y López, 1996).

Tanto los flujos energéticos como los ciclos de nutrientes son altamente sensibles a los cambios ambientales en las cadenas tróficas, y con ello la continuidad-estabilidad del ecosistema.

La actividad productiva desarrollada por el hombre, como ya se dijo, fué modificando paso a paso el entorno con la agricultura, ganadería, silvicultura, caza, pesca, etc., hasta imponer un manejo a los procesos naturales efectuados por el ecosistema. Estas acciones llevan al concepto de agroecosistema, considerado como un ecosistema modificado con fines antropocéntricos. La diferencia entre un ecosistema y un agroecosistema radica esencialmente en la autosuficiencia y autorregulación del primero; esto se obtiene gracias a la biodiversidad, que mediante interrelaciones complejas

logra que las poblaciones (de la flora y la fauna), en un ambiente determinado, se regulen y sostengan en cierto equilibrio. Por ejemplo, ciertos insectos que tienen su hábitat en cierto grupo de plantas, son predadores de otros insectos que viven en otros grupos de plantas, lo que se traduce en que estos últimos no llegarán a comportarse como una plaga mientras que esté presente el predador específico viviendo en la planta adecuada.

Al transformar el ecosistema en un agroecosistema necesariamente se alteran las condiciones ambientales originales, disminuyendo drásticamente la biodiversidad, lo que provoca una alteración entre los componentes biótico y abiótico, así mismo se interrumpen los ciclos biogeoquímicos.

Para el logro de la productividad del agroecosistema es necesario introducir gran cantidad de energía, en forma de mano de obra, de maquinaria y en general de insumos agrícolas. Se aplican fertilizantes para sustituir el segmento alterado del ciclo de los nutrientes, la aplicación de insecticidas para controlar a las poblaciones que se transforman en insectos plaga; herbicidas para controlar la competencia entre plantas cultivadas y las arvenses (plantas silvestres) por luz, agua, nutrientes, etc. En fin se requiere inyectar niveles variables de energía para lograr el objetivo de producir alimentos en cantidades suficientes, y sobre todo a bajo costo. Las consecuencias de esta tecnología, desafortunadamente, han sido negativas para la salud ambiental y por lo tanto para la salud del hombre.

La principal justificación que se ha dado para seguir aplicando insumos agrícolas que provocan reacciones negativas en el ambiente ha sido el necesario incremento de la producción de alimentos y el combate de plagas y enfermedades en los cultivos; sin embargo, a los elementos anteriores están fuertemente ligados el aspecto mercantilista en la actividad agrícola y la actividad económica globalizante.

En efecto, la actividad agrícola se ha incorporado a la economía de las naciones en forma importante, generando alimentos para el mercado interno y divisas a través de la exportación de alimentos y materias primas para la industria. Es además innegable la trascendencia social y económica de la producción de alimentos; sin embargo, como ya se ha señalado, esta actividad depende de manera importante de la aplicación de insumos (agroquímicos), de

alto costo y nocivos a la vida. Se sabe que los insecticidas, herbicidas, fungicidas, entre otros, presentan un efecto negativo directo sobre las células de los organismos.

En este punto es importante resaltar que la célula es considerada como un sistema complejo formado por diferentes moléculas o agrupamientos que interaccionan de manera armónica y determinan en el organismo propiedades y características de la vida tales como crecimiento, reproducción, movimiento, etc. La célula, según su especialización, constituye órganos, aparatos o sistemas en cada especie. El elemento tóxico puede actuar sobre la membrana, el citoplasma (organelos) o sobre el núcleo de la célula (nucleótidos que es la unidad vital responsable de la duplicación del ADN). La respuesta de la célula se reflejará en una alteración de su función: secreciones, velocidad de reacción, estimulando o inhibiendo reacciones específicas. Por ejemplo, los insecticidas organoclorados y organofosforados, inhiben enzimas del ácido delta amino levulinico (DELTA ALA), responsable de la catálisis del azúcar muscular (mioinositol) que regula el flujo eléctrico transportado por el sistema nervioso central, lo que produce en el organismo falta de coordinación en el movimiento y rigidez muscular. Los piretroides sintéticos (ésteres químicos del ácido crisantémico) alteran la cantidad de iones de sodio ( $\text{Na}^+$ ) y potasio ( $\text{K}^+$ ) en las regiones internas y externas de la membrana de las células nerviosas, con lo que se transforma el impulso eléctrico, lo que a su vez desencadena un atraso o aceleración de los impulsos nerviosos.

Pues bien, luego de más de seis décadas del uso de agroquímicos, veamos algunos de sus resultados: se ha incrementado la producción de alimentos pero el hambre sigue campeando en el planeta, la producción actual de alimentos es más que suficiente para alimentar a la población humana mundial; los recursos naturales (suelo y agua, principalmente) presentan niveles alarmantes de degradación física, química y biológica, la productividad de los suelos ha decrecido, la distribución de la riqueza asociada a la producción de alimentos ha favorecido a unos pocos y empobrecido a la mayoría de los productores; muertes y enfermedades congénitas en personas que han tenido contacto prolongado con pesticidas, etc. (Betancourt *et al*, 1999). En este mismo periodo en México la superficie de tierra cultivable per cápita ha disminuido de 0.6 a

0.4 ha; a partir de 1972 se importan anualmente más de un millón de toneladas de cereales y medio millón de toneladas de soya (Viniegra, 1881).

A todo esto la sociedad pide una respuesta, una solución que rompa con el paradigma actual de producción, en el que el desarrollo no este asociada con el deterioro de los ecosistemas, que se detenga la carrera hacia el suicidio ambiental. Aunque no hay respuesta fácil, existen planteamientos de índole estructural y de orden pragmático que conduce a lo que se ha dado en llamar “desarrollo sustentable”. Al respecto, Toledo (1993) menciona que una verdadera modernización del México rural supone la adopción de por lo menos tres medidas fundamentales: una estrategia que garantice el uso no destructivo de los recursos naturales y que permita la paulatina restauración ecológica del territorio; una nueva legislación agraria que distribuya el acceso a los recursos naturales bajo criterios ecológicamente fundamentados, y una política que, retomando la filosofía contenida en el artículo 27 constitucional, reorganice la producción dotándola de un verdadero sentido social.

En el sector académico se han venido desarrollando una serie de metodologías de producción agrícola con base en el funcionamiento de los ecosistemas, muchas de ellas ya las empleaban nuestros antepasados en lo que hoy se conoce como “tecnología tradicional” (Hernández y Ramos, 1985; Rappaport, 1971; López-Alcocer *et al*, 2000).

En la década de los 70 se acuñó el término “Agroecología”, como parte de la ciencia ecológica que estudia y sistematiza el conocimiento de la agricultura tradicional y los conocimientos que aporta la propia naturaleza, asociando la producción agrícola con la ecología. Al respecto se pueden mencionar los arreglos topológicos de los cultivos y la diversificación productiva (cultivos asociados, en relevo, en sucesión, etc.); técnicas de manejo de suelo tendientes a su conservación (diferentes tipos y niveles de labranza); estrategias de fertilización biológica (uso de microorganismos y abonos orgánicos) y la producción de cultivos sin recurrir a insumos de síntesis químico-industrial para el control de arvenses, plagas y enfermedades, la denominada Agricultura orgánica. En este aspecto estamos frente a un nuevo paradigma que, para bien de todos, se está tomando cada vez con mayor interés por parte de los agricultores; se registra una demanda creciente de productos derivados de la producción orgánica. Así los productores hacen

propias las alternativas de producción orgánica en sus predios; ya se observan los beneficios reflejados en sus suelos, agua y sobre todo en su economía. El mercado que se especializa en productos orgánicos no es muy amplio, sin embargo algunos sectores de la población están dispuestos a pagar mayor precio por ellos como justa retribución al mayor costo de producción que esto representa. Hospitales y otras instituciones de salud y rehabilitación procuran relacionarse con los productores orgánicos, ya que sus productos son útiles en los programas de salud y desintoxicación. A pacientes con cáncer o enfermedades infecciosas, como parte de su tratamiento, se les recomienda la ingesta de productos orgánicos.

Para comprender el porqué es baja la adopción de las prácticas de producción orgánica, se debe considerar que toda innovación tecnológica tiene que acreditar los elementos de generación, validación, difusión y adopción, con un complemento de bases materiales de infraestructura, jurídicas y económica (Asteinza, 1993), varios de estos considerandos están pendientes.

Otro aspecto que es necesario mencionar es que en este modelo de producción es un requisito indispensable el no utilizar agroquímicos (herbicidas, pesticidas, fertilizantes, etc.), lo que implica una mayor inversión en mano de obra, con lo que se incrementan considerablemente los costos de producción. Bajo este modelo, en un predio de reciente conversión al sistema orgánico, en los primeros años disminuye el volumen de cosecha, debido a la baja fertilidad del suelo, los controles parciales de arvenses, plagas y enfermedades en el cultivo; estos problemas se superan conforme se restablecen en la parcela los principales ciclos naturales y el flujo de energía.

Por otro lado, se ha observado que los controles para la comercialización, distribución y uso de agroquímicos por parte de las secretarías de agricultura y Salud, son cada vez más estrictos. Se requiere de evaluaciones más precisas de los agroquímicos, con indicadores de producción, ambientales y de salud.

México ha integrado un organismo denominado “Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas” (CICOPLAFEST), representa un gran avance en la coordinación Interinstitucional para resolver conjuntamente asuntos relacionados con las sustancias, de acuerdo con las atribuciones que le competen. Incluye en sus

estrategias la participación de la iniciativa privada; facilita el cumplimiento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, en relación con la emisión de Normas Oficiales Mexicanas que integren los contenidos básicos de las Normas Técnicas en materia de sustancias químicas; sus acciones se apoyan en la Ley General de Salud como un instrumento básico en la materia, enfocado a la protección de la salud; incluye a la Ley Federal de Sanidad Vegetal para el manejo adecuado de plaguicidas y fertilizantes en la agricultura y medidas fitosanitarias; así mismo, incorpora criterios contenidos en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. Las normas oficiales mexicanas (NOM) son cada vez más exigentes, por ejemplo, la NOM-EM-034-FITO-2000, se refiere a los requisitos y especificaciones para la aplicación y certificación de buenas prácticas agrícolas en los procesos de producción de frutas y hortalizas frescas.

No obstante lo anterior se sigue permitiendo la distribución y el uso de pesticidas que afectan al ambiente y a la vida. El público en general puede adquirir en el comercio formal y sin restricciones la cantidad que desee de agroquímicos, y su aplicación en el campo se realiza libremente y difícilmente se realiza una sanción a los diferentes eslabones de la cadena de producción, distribución y aplicación de pesticidas.

Solo para el registro de productores orgánicos se exige el cumplimiento de la norma respectiva. Existe un sistema de certificación de productores orgánicos a través de agencias nacionales e internacionales, donde el productor que reúne los requisitos necesarios, adquiere el certificado correspondiente que le permite exportar sus productos.

Corolario: Los países industrializados nos rentan las patentes de sus agroquímicos, nos venden los elaborados en sus plantas (o en nuestro país); nos venden su tecnología para el “uso adecuado” de ellos y luego cierran sus fronteras para no permitir la entrada de los productos agrícolas producidas con sus agroquímicos y su tecnología.



## **Bibliografía**

- Asteiza B.G. (1993). *Tecnologías alternativas para el agro mexicano*. En. I.L. Calva (Coordinador). *Alternativas para el campo mexicano*. UNAM. México. pp 107-138.
- Ayala F.J. y J.A. Kiger. (1984). *Genética moderna*. Fondo educativo Interamericano. Ediciones Omega, España. pp. 58-128.
- Barkin D. y B. Suarez. (1985). *El fin de la autosuficiencia alimentaria*. Centro de Ecodesarrollo. Editorial Océano. Pp. 227-240.
- Betancourt Y.P, J. González, B. Figueroa y F. González. (1999). *Materia orgánica y caracterización de suelos en proceso de recuperación con coberturas vegetativas en zonas templadas de México*. Terra Latinoamericana 17 (2):139-148.
- Cano C.G. (1997). *Evolución y especiación*. En. Enkerlin C.E., C. Cano, R.A. Garza y E. Vogel (Eds.) *Ciencia ambiental y desarrollo sostenible*. International Thomson Editores, México. pp. 39-62.
- Granados S.D. y G.F. López. (1996). *Agroecología*. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Flannery K.V. (1973). *The origins of agriculture*. Ann. Rev. Anthro. 271-308.
- Hernández X.E. y A. Ramos. (1985). *Metodología para el estudio de agroecosistemas con persistencia de tecnología agrícola tradicional*. En. Xolocotzia. Revista de Geografía Agrícola. Tomo I. Universidad Autónoma Chapingo. México. pp. 189-194.
- López-Alcocer E., A.P. Topete, F. Calderón y R. Canales (2000). *El sistema de producción; un elemento para la generación de tecnología en la disciplina agroecológica*. Revista Scientia-CUCBA. 2 (1):48-59.
- Rappaport R.A. (1971). *The flow energy in the agriculture society*. Scientific American (224):177-182.
- Restrepo I. (1988). *Naturaleza muerta. Los plaguicidas en México*. Editorial Andromeda. México.
- Restrepo R.J. (1996). *Los venenos*. Universidad de La Habana.
- Strickberger M.W. (1976). *Genética*. Editorial Omega. España. pp. 325-454.
- Toledo V.M. (1993). *Ecología y nueva Ley Agraria en México: preludeo y fuga de la modernización obsoleta*. En. Calva J.L. (Coord.) *Alternativas para el campo mexicano*. UNAM. México. pp. 31-43.
- Turk A., J. Turk y J. Wittes. (1984). *Ecología-contaminación-medio ambiente*. Editorial Interamericana, México.
- Viniegra G.G. (1981). *Consideraciones económicas sobre el aprovechamiento de los desperdicios agrícolas, ganaderos y agroindustriales*. En. Monroy H.O. y G. Viniegra. (Comps.). *Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos*. AGT. Editor. México. pp. 19-32.

## CARCINOGENESIS AMBIENTAL

El cáncer es un término genérico de un gran grupo de enfermedades que pueden afectar cualquier parte del cuerpo (WHO, 2011), las características que lo definen son: la pérdida del control de crecimiento, desarrollo y multiplicación celular, células anormales que crecen más allá de sus límites normales y que pueden invadir zonas adyacentes del organismo o diseminarse a otros órganos, este proceso es referido como "metástasis", (SSA, NOM-041-SSA2-2002, WHO, 2011), es la segunda causa de muerte en el mundo, después de las enfermedades cardiovasculares, globalmente fueron descritos 12.7 millones de casos nuevos en 2008, (de los cuales 6,639,000 fueron hombres y 6,0038 mujeres), un dato más que se impone es que el riesgo de cáncer aumenta considerablemente con la edad y por lo tanto es más común hoy en día debido a la creciente esperanza de vida, por lo que se estima que la incidencia de cáncer a nivel mundial se duplicará entre 2000 y 2020 y casi el triple que en 2030 (IARC, 2011).

Por otro lado, estas estadísticas señalan que del total de los nuevos casos el 56% (7,1 millones) y el 63% de las muertes por cáncer (4,8 millones), se registraron en los países de bajos y medianos ingresos, cifras que se prevé aumenten debido al incremento de la esperanza de vida y al gran tamaño de la población (Ferlay, 2010, WHO, 2011), la influencia de "estilo de vida occidental", al crecimiento del número de personas con bajos ingresos, la mayor exposición a sustancias tóxicas en el medio ambiente, incluyendo la exposición laboral, la obesidad y muchos otros factores (Philip, 2001).

El panorama en México y particularmente en el estado de Jalisco no es muy diferente a la situación mundial, ya que la Secretaría de Salud informó que en el censo del 2009 en México el cáncer es la segunda causa de muerte, y que Jalisco fue la segunda entidad federativa que manifestó más casos con cáncer, también indicó que en este estado el 15 % de los decesos entre mujeres

mayores de 40 años son ocasionados por el cáncer de mama, seguido del de cuello del útero con 14% (La Barca con mayor número de casos registrados), después los de hígado y vías biliares e intrahepáticos con 9.2%. En hombres el 17.1% de las defunciones se debió a tumores de próstata (Guadalajara y Zapopan ocupan el primer lugar) y 16% a pulmón, tráquea y bronquios (SSA, Jalisco, 2009).

Las estimaciones actuales de la Organización Mundial de la Salud y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, (IARC por sus siglas en inglés *The International Agency for Research on Cancer*), sugieren que los casos de cáncer en el mundo, atribuibles a la exposición ambiental, son de entre el 7% y 19% e incluyen las exposiciones ocupacionales (Daniaei, 2005, Christiani 2011, Straif 2008, WHO, 2011, WHO 2009). Además, es preocupante ya que aproximadamente la mitad de esas muertes pudieron o podrían ser evitadas (Landrigan, 2011, Christiani 2011).

El cáncer puede imponer una carga sustancial a largo plazo debido a los sufrimientos de los individuos y las familias, el impacto económico de los miembros activos de la sociedad y los altos costos para los sistemas de salud. Un informe reciente demuestra que el cáncer causa la mayor pérdida económica de todas las 15 principales causas de muerte en el mundo. Por tanto, esta inmensa cantidad de personas afectadas exige implementar estrategias para prevenir y disminuir el número de casos así como impulsar investigaciones que permitan: la detección temprana, mejor estratificación de tumores para establecer tratamientos más eficaces y oportunos y desarrollar medidas preventivas (Visvander, 2011). Debido a lo anterior, la primera línea de lucha contra del cáncer se enfoca en la prevención y para ello es fundamental identificar los factores y mecanismos que participan en el origen del cáncer y su desarrollo (IARC, 2011), por tanto, son esenciales los programas de detección de carcinógenos establecidos por organizaciones como la IARC o los organismos nacionales de salud de cada país. Contar con una base científica permite centrar esfuerzos para el control del cáncer mediante la prevención de la exposición a agentes cancerígenos conocidos y sospechosos. Los individuos también pueden usar esta información para tomar

decisiones más informadas y reducir su exposición a agentes causantes de cáncer (Boyle, 2008).

Los factores ambientales (dieta, estilo de vida, aire, agua, geografía) y el nivel socioeconómico son muy importantes respecto a la etiología del cáncer, por ejemplo, la población japonesa residente de USA adquirió, después de dos generaciones, una incidencia de cáncer similar a la población americana, además, el riesgo de cáncer de mama resultó 20 veces superior en USA y Canadá respecto a los países de América Central (Curado, 2011). Es claro que el análisis comparativo entre poblaciones de distintos países permite definir las causas ambientales responsables de las notables variaciones en la incidencia cáncer.

### **Generalidades, definiciones y conceptos**

El cáncer es una enfermedad multifactorial debido a la combinación de factores genéticos y externos que actúan al mismo tiempo y de forma secuencial (Pfeifer, 2011). Los factores endógenos (genéticos) son responsables de aproximadamente un 2-5% de los cánceres, como en el caso del retinoblastoma y *Xeroderma pigmentoso*, en cuanto al resto existen pruebas que indican que el contribuyente predominante para muchos tipos de cáncer es el medio ambiente (Christiani, 2001; Rothman, 2001).

Una característica de los eucariontes es su limitación del tiempo de vida, estimado en un máximo de 50 a 60 divisiones (lo que supone la existencia de un reloj biológico indicador del inicio de la senescencia), particularidad que también se extiende a las células somáticas, cuyo crecimiento y división están altamente regulados. Una excepción notable se da en células cancerosas, que perdieron el control habitual del crecimiento y son inmortales (Quezada, 2007), además suelen diferir de sus células vecinas en una serie de características fenotípicas, como su capacidad para desarrollarse en lugares inapropiados (invasión de nuevos tejidos “metástasis”) (Massagué, 2009). También se dividen a mayor velocidad, se propagan indefinidamente, con tasa metabólica elevada, nuevos antígenos de membrana, alteraciones en la forma y son menos dependientes de factores exógenos, lo que puede ser letal para el organismo (Massagué, 2009; Quezada, 2007). De esta manera, los cambios

que tienen lugar cuando una célula se vuelve tumorigénica básicamente son tres: 1) Inmortalización (capacidad de crecer indefinidamente), 2) Transformación (incapacidad de obedecer a las limitaciones de crecimiento) y 3) Metástasis. Es notorio que estas células han sufrido alteración en factores que regulan la diferenciación celular normal, por lo tanto, es importante conocer las causas primarias de estas alteraciones (Collins, 1997).

El cáncer se desencadena por uno o múltiples causas y sucesos, no de un solo cambio, sino de un grupo de más de 200 distintos, en los que se produce un crecimiento anormal de las células, hasta convertirse en masas de tejidos llamados tumores o neoplasias y se sugiere que inicia cuando agentes externos causan mutaciones convirtiendo genes normales de un individuo en genes anormales capaces de inducir un cáncer (iniciación tumoral), de ahí que se menciona que el cáncer es monoclonal (Collins, 1997). Diversos agentes incrementan la frecuencia de mutaciones y las células adquieren el estado transformado, proceso que puede ocurrir espontáneamente o ser causada por el estímulo de décadas de exposición a dichos agentes (Validespino, 2008).

### **Cáncer de origen genético y cáncer de origen ambiental**

Como se mencionó, el cáncer es una enfermedad genética que se desarrolla por la acumulación de mutaciones en células somáticas que las lleva a un comportamiento biológico agresivo. Se denominan cánceres genéticos o hereditarios, a los que se desarrollan en pacientes portadores de mutaciones específicas en sus células germinales y que por tanto están presentes en todas las restantes células somáticas. Se caracterizan por agrupamientos familiares con un patrón de incidencia en edades más precoces que las de los cánceres esporádicos, mayor frecuencia de afectación bilateral o multifocal unilateral, tumores diferentes en órganos embriológicamente afines, mayor riesgo de segundas neoplasias entre los supervivientes y normalmente asociados con otras manifestaciones fenotípicas en forma de síndromes característicos de variable severidad precediendo la aparición de los cánceres. Se han descrito varios cánceres hereditarios, sin embargo, considerando todos los segmentos poblacionales estos síndromes genéticos hereditarios son responsables solamente del 2-5% del total de todos los tipos de cáncer, excepto en los

pediátricos en, los cuales, la frecuencia se calcula de 4 -10 % de los casos (Ferrís, 1999, Sijmons RH, 2011). Entre los cánceres no genéticos se encuentran el de pulmón, vejiga, faringe, labio, lengua, boca, hígado, esófago y piel (Siemiatycki, 2004). En aquellos cánceres cuyos registros son similares en distintas poblaciones, se responsabilizan a los agentes endógenos de ser los factores desencadenantes de esta enfermedad y son: cáncer de recto, cerebro y colon (en hombres) y mama, recto, ovario, cerebro y colon (en mujeres). Lo anterior sugiere que los agentes endógenos son determinantes para la aparición de esta enfermedad (Lutz 1996).

Ante esto se realizan grandes esfuerzos para prevenir que la población se exponga a factores cancerígenos y el primer paso consiste en la detección de tales factores (WHO, 2011) y la eliminación y/o disminución de la exposición para reducir la incidencia y mortalidad del cáncer. Estos factores se pueden encontrar en el medio ambiente (radiaciones ionizantes y no ionizantes, asbesto, dioxinas, emisiones industriales, plaguicidas, arsénico, aflatoxinas, ciertos virus etc). Las exposiciones pueden ocurrir en múltiples ocasiones y en diversos escenarios a lo largo de toda la vida; en los hogares y las escuelas, en el medio ambiente y el trabajo. El humano siempre está en riesgo de exposición y cuando es de tipo ocupacional en los padres se incrementa el riesgo de cáncer en los hijos (Bearer, 1995).

### **Mutagénesis**

Un mutágeno es un agente capaz de inducir cambios deletéreos heredables en el ADN llamados mutaciones. El estudio de las mutaciones se inició en 1900 y en 1927 Miüller demostró la capacidad mutagénica de los rayos X en *Drosophila melanogaster*. La frecuencia con la que ocurren las mutaciones espontáneas son muy bajas, por lo que la exposición a los agentes denominados mutagénicos incrementa la tasa de mutación espontánea y por lo general en una relación dosis respuesta si bien pudieran presentarse patrones complejos. Las mutaciones por lo general ocurren al azar, por lo que no es posible predecir en cual gen o célula en particular aparecerá la mutación, ya que esto dependerá de la sensibilidad del individuo, del tejido expuesto, la concentración del compuesto, dosis y tiempo. Cuando los mutágenos logran dañar las células

gonadales (óvulos y espermatozoides) se generan mutaciones que se transmitirán a generaciones futuras manifestándose por lo general en desordenes genéticos, en contraste si las células que daña el mutágeno son somáticas sólo se transmitirán de célula a célula en forma clonar, mecanismo que ocurre con el cáncer, por ejemplo (Torres, 2013).

### **Genotoxicidad**

En 1973, Ehrenberg introdujo el término –genotóxico- para referirse a los efectos toxicológicos letales y hereditarios, tanto en las células germinales como somáticas, la ciencia que estudia esos factores y sus efectos genéticos adversos es la genética toxicológica, su objetivo es conocer los eventos que ocurren en los proceso de interacción de las genotoxinas con el ADN y la expresión del daño genético (Torres, 2013).

### **Carcinogénesis**

Se define como el fenómeno por el que un tejido normal genera el crecimiento de tejidos nuevos, diferentes al original. Estos tejidos nuevos se conocen, en general como tumores y se clasifican como benignos y malignos, las células de tejido nuevo tienen un núcleo más grande y su capacidad de reproducción es siempre mayor que las células de los tejidos normales, por lo que sustituyen a los tejidos normales y los invaden. Los tejidos tumorales se reproducen rápidamente y crecen sobre los normales como tenazas, fuertemente adheridas, de allí se deriva el nombre de cáncer, que procede de la palabra griega que significa cangrejo (Martín y Domingo, 2011).

### **Clasificación de tumores**

Los tumores se clasifican de acuerdo con el tejido y con el tipo de celular a partir del cual se originan; los cánceres que proceden de células epiteliales se denominan *carcinomas*, los que proceden de células del tejido conectivo o de células musculares se llaman *sarcomas*, hay otros tipos de neoplasias que no entran en esta clasificación, que son las derivadas de células hematopoyéticas que originan las *leucemias* y *linfomas*, y las de células del sistema nervioso (Torres, 2013).

## **Definición y clasificación de carcinógeno**

Un *Carcinógeno* o *Cancerígeno* es cualquier agente químico, físico o biológico que puede, en potencia, inducir una neoplasia o cáncer, este término se aplica con más frecuencia a sustancias químicas introducidas en el medio ambiente por la actividad humana, y se clasifica a una sustancia como carcinógeno cuando al afectar a una población, no expuesta previamente, se incrementa significativamente alguna forma de neoplasia, crecimiento celular autónomo, (Espinosa *et al.*, 2006). La exposición a agentes carcinogénicos puede ocurrir a través de las vías fundamentales de contacto entre el medio exterior y el organismo como inhalación, ingestión o contacto cutáneo y las fuentes pueden ser ambientales, laborales alimentarias y médicas.

Existen diversas formas de clasificar a los agentes cancerígenos, por ejemplo se pueden clasificar como cancerígenos endógenos o exógenos, o bien identificar cancerígenos genotóxicos o no genotóxicos, así mismo como agentes físicos, químicos y biológicos, otra clasificación muy frecuente es de acuerdo a la etapa de la carcinogénesis en la que actúan ya sea en la etapa de **iniciación, promoción o progresión** y en el caso de la IARC los clasifica de acuerdo a pruebas de carcinogenicidad, para lo que forma grupos de compuestos ya demostrados como cancerígenos y aquellos que están en vías de demostración ([http 3](http://3)).

*Carcinógeno endógeno o exógeno.* Un cancerígeno endógeno comprende factores genéticos, etarios (edad), metabólicos, inmunológicos, virales y hormonales. Los cancerígenos exógenos se definen como los agentes físicos, químicos y biológicos externos al huésped humano (WHO, 2011; Prüss-Üstün, 2006) incluyendo agentes químicos como polvo de asbesto, cromo, níquel, sílices, compuestos de cadmio, urano, agentes que favorecen la aparición de cáncer en los pulmones. Otro tipos de cancerígenos exógenos son los agentes biológicos, como ciertos virus y parásitos. Entre ellos se tiene al virus HTLV1, causante de un tipo de leucemia, y el *Schistosoma haematobium* que, además de dar origen a un tipo de bilharzia frecuente en Egipto, se ha asociado con el desarrollo de cáncer de vejiga.



En 2002, se estimó que 17,8% de los cánceres (1,9 millones de casos) fueron causadas por infección viral (12,1%), bacteriana (5,6%) y por helmintos (0,1%) infección. De estos, la mayoría ocurren en los países en desarrollo (1,5 millones de casos), lo que refleja la mayor prevalencia de las infecciones principales oncogénico en estas áreas. Si las infecciones pudieran ser controladas se cree que habría un 26% menos cáncer en los países en desarrollo y aproximadamente un 8% menos en los países desarrollados.

### **Cancerígenos genotóxicos y no genotóxicos**

Los carcinógenos podrían clasificarse de acuerdo a si interactúan directamente con el ADN (genotóxicos) o no (epigenéticos o no genotóxicos). Los carcinógenos genotóxicos, presentan la capacidad de alterar la estructura del ADN y/o de los cromosomas, dañan genes involucrados en el control de proliferación y migración celular y se asume que presentan respuesta proporcional a dosis bajas, en la mayor parte de los casos. La acción carcinógena de estos agentes consiste en un aumento del potencial oxidativo de las células lo cual resulta en modificaciones en el ADN (oxidación del ADN) o formación de uniones covalentes de los agentes o sus metabolitos a las cadenas de ADN (aductos). En la acción de este tipo de sustancias juega un papel fundamental el metabolismo celular, a través del cual se produce la biotransformación de sustancias en principio inocuas a compuestos (generalmente reactivos) que presentan capacidad genotóxica y que son llamados (carcinógenos finales). En todo caso, la acción de un agente carcinogénico debe acompañarse, para que ésta sea efectiva, de un desbalance en los mecanismos de reparación de ADN, de esta forma actúan como iniciadores de tumor (Domínguez Boda, 2004). En contraste, los carcinógenos no genotóxicos denominadas también epigenéticos son capaces de inducir neoplasias sin metabolitos que reaccionen directamente con el ADN, son promotores de tumor e incrementan el crecimiento de células tumorales o sus precursoras, además exhiben un umbral tumor dosis-respuesta. En general, estos compuestos actúan modificando la fisiología normal de órganos y sistemas específicos produciéndose una sobre estimulación persistente cuyo resultado es una replicación celular intensificada (alteración del ciclo celular con efecto mitogénico). Esto puede dar lugar al incremento de mutaciones espontáneas y de las probabilidades de alterar el ADN tanto por factores

endógenos como exógenos antes de que haya posibilidad de reparación (Melnick, 1996),

### **Clasificación de cancerígenos según la etapa de la carcinogénesis en la que actúan**

**Iniciación:** Proceso inicial de alteración de una célula a nivel del genoma y podría implicar el metabolismo, la reparación del ADN o la proliferación celular y la alteración de uno de estos procesos podría iniciar la carcinogénesis. El causante implicado en esta etapa se le denomina *agente iniciador*, ya que estos elementos iniciadores podrían causar mutaciones de cualquier tipo conllevando alteraciones celulares fenotípicas. Las características morfológicas y biológicas de este proceso son: irreversibilidad, la célula afectada no se distingue morfológicamente de la célula normal, es necesario que se produzca al menos un ciclo celular completo con división de la misma para que se "fije" el daño inducido, la eficiencia del proceso de iniciación puede ser modulada por agentes exógenos y/o hormonas endógenas, es de destacar que la aparición de células iniciadas puede ser espontánea, en la mayor parte de los casos. La iniciación se desencadena por los agentes completos (aquellos capaces de inducir la iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis a partir de células normales), éstos son mucho más abundantes en nuestro medio que los incompletos (Domínguez-Boada, 2004).

**Promoción:** El agente promotor se define como aquel compuesto químico capaz de causar la expansión selectiva de las células iniciadas, producen una alteración en la transducción de señales celulares, por lo tanto, su mecanismo de acción reside en una alteración de la expresión génica mediada a través de receptores específicos no hay alteraciones estructurales directas en el ADN y es reversible tanto a nivel de la expresión genética como a nivel celular, la continuidad del estado de promoción en una población celular depende de la administración continua del agente promotor. La eficiencia de esta etapa es sensible a la edad de la célula, a factores de la dieta y hormonales, agentes promotores endógenos, si bien podría darse promoción espontánea (Visvander, 2011).

**Progresión:** El agente progresor es aquel compuesto químico capaz de convertir una célula iniciada o en estado de promoción en una célula potencialmente maligna. La progresión de la carcinogénesis se puede producir también mediante la incorporación en el genoma de información genética exógena (por ejemplo, de virus) o alteraciones cromosómicas espontáneas. Las características morfológicas y biológicas de esta etapa son: irreversible, se distingue morfológicamente la alteración en la estructura genómica celular reflejada por inestabilidad cariotípica, que incluye la alteración en el aparato mitótico, trastorno en la función de los telómeros, hipometilación del ADN, recombinación, amplificación y transposición génica. El estado de progresión se puede desarrollar a partir de células en estado de promoción o bien directamente a partir de células normales como resultado de la administración de dosis relativamente altas de agentes carcinógenos completos.

**Co-carcinógeno** es un factor incapaz de generar cáncer por sí solo, pero que sí puede hacerlo en conjunción con otros agentes, entonces hay que considerar la existencia de la interacción entre cancerígenos, ya que es frecuente observar interacción sinérgica entre cancerígenos iniciadores, como ocurre en algunos agentes ambientales pueden actuar estimulando cánceres que han sido iniciados por otros agentes (Boffetta, 1998).

*Clasificación de cancerígenos de acuerdo a la IARC.* La IARC estableció una serie de criterios para evaluar las pruebas de carcinogénesis de agentes específicos, de hecho, este programa representa uno de los mayores esfuerzos de revisión sistemática y consistente de los datos sobre el cáncer, por lo que ejerce un efecto importante sobre las actividades de control de cáncer profesional nacionales e internacionales. Así la IARC clasifica cuatro grupos de compuestos, obviamente basándose en pruebas científicas existentes sobre carcinogénesis ([http 1](http://1), IARC);

**Grupo 1:** "Carcinógeno para el ser humano". Se refiere a procesos industriales, compuestos químicos o grupos de los mismos que son cancerígenos para el hombre, existen pruebas suficientes que confirman que puede causar cáncer a los humanos.

**Grupo 2:** "Probablemente carcinógeno para el ser humano". Hay pruebas suficientes de que puede causar cáncer a los humanos, pero actualmente no son concluyentes, este grupo se subdivide en dos:

- **2A** Alta probabilidad cancerígena
- **2B** "Posiblemente carcinógeno para el ser humano". Baja probabilidad cancerígena Hay algunas pruebas de que puede causar cáncer a los humanos pero de momento están lejos de ser concluyentes.

**Grupo 3:** "No puede ser clasificado respecto a su carcinogenicidad para el ser humano". Actualmente no hay ninguna prueba de que cause cáncer a los humanos.

**Grupo 4:** "Probablemente no carcinógeno para el ser humano". Hay pruebas suficientes de que no causa cáncer a los humanos.

### **Carcinogénesis, medio ambiente y exposición ocupacional**

*Exposición a químicos.* Si se tiene presente que en 1984 se calculó que el número de sustancias químicas de uso cotidiano es de 70,000, se puede comprender la preocupación cada vez mayor por determinar cuáles de ellas posee acción cancerígena, ya que para la gran mayoría no se han llevado a cabo las investigaciones sobre este efecto.

Históricamente, el carcinógeno químico o grupo de sustancias cancerígenas que ha recibido la mayor atención ha sido el humo del tabaco, y con razón. Sin embargo, también existe una fuerte evidencia de que las exposiciones industriales y de fabricación de productos químicos, las exposiciones agrícolas a los pesticidas o las aflatoxinas, la contaminación del aire interior y exterior y la contaminación química del agua puede constituir causa de cáncer por los factores presentes en el entorno de vida y de trabajo (WHO, 2011).

*Asbesto.* El asbesto o amianto está formado por un grupo de silicatos hidratados microcristalinos fibrosos y en cadena que ocurren naturalmente en el ambiente. Según su composición química se presentan diferentes tipos de asbestos. Entre ellos destacan las serpentinas y los anfíboles. Se caracterizan porque las primeras presentan fibras curvadas mientras que las otras están

constituidas por fibras rectas. Tras la Revolución Industrial el asbesto se convirtió en una materia prima esencial siendo los principales países productores la antigua URSS, EEUU, Canadá, Australia y Sudáfrica. Este material se caracteriza porque posee excelentes propiedades aislantes, mecánicas, químicas y presenta resistencia al calor y a las llamas (abrasión y tracción). También, algunos productos de vermiculita o de talco pueden contener asbesto (Hernández, 2009). Las principales fuentes de exposición a este material son (Marinaccio, 2006): **Laboral:** Generalmente al perturbar los materiales que contienen asbesto las fibras se liberan al aire. Los individuos que trabajan en la minería de asbesto o en las industrias de construcción y automovilística, se ven expuestos a este material. **Doméstica:** En el hogar, la inhalación del aire y asbesto afecta a los individuos cuando entran en contacto con las fibras de la ropa de trabajo de trabajadores del asbesto. **Ambiental:** Afecta principalmente a las personas que residen cerca de un punto de emisión de asbesto e inhalan el polvo disperso en el aire. Las fibras de asbesto pueden pasar al aire o al agua no sólo a los productos de asbesto manufacturados sino también por la degradación de depósitos naturales.

El agua potable puede contener asbesto procedente de fuentes naturales o de tuberías de fibrocemento que contienen asbesto. Las fibras y las partículas de asbesto de diámetro pequeño permanecen suspendidas en el aire durante mucho tiempo y se transportan largas distancias por el viento y el agua antes de depositarse. Las fibras de asbesto no pueden moverse a través del suelo permaneciendo inalteradas largos periodos de tiempo.

Manifestaciones tóxicas producidas por asbesto: Una exposición corta a altos niveles de asbesto o respirar altos niveles de fibra por largo tiempo, pueden producir lesiones que aparecen como cicatrices en el pulmón y la pleura. El riesgo de padecer una enfermedad asociada al asbesto está relacionado con la concentración de las fibras presentes en el aire, la duración de la exposición, la frecuencia de exposición, el tamaño de las fibras inhaladas, el tiempo transcurrido desde la exposición inicial. El aumento del riesgo para la salud no está relacionado con la cantidad de asbesto que contiene un producto. En general, las serpentinas presentan menor toxicidad que los anfíboles. Asimismo, respecto a los anfíboles, la amosita (asbesto marrón) presenta

menor toxicidad que la crocidolita (asbesto azul) (Becklake, 2007; Roggli, 2008).

Los principales efectos sobre la salud derivados de la exposición al asbesto son:

La asbestosis (fibrosis pulmonar), el cáncer de pulmón, el mesotelioma maligno (pleural o peritoneal) y las placas pleurales (Roggli, 2008). **Asbestosis:** Es una fibrosis intersticial pulmonar difusa capaz de producir la muerte en individuos expuestos a altos niveles de asbesto durante largo período de tiempo. Su evolución es lenta pudiendo pasar un tiempo de 20 años o más entre la exposición a las fibras de asbesto y el comienzo de la enfermedad. Las fibras inhaladas causan irritación de los tejidos pulmonares, que hacen que se produzcan cicatrices que ocasionan insuficiencia respiratoria, aparece tos y dilatación del corazón. Se ha demostrado que los casos de asbestosis son más frecuentes en las zonas costeras y con un nivel medio-alto de desarrollo industrial (industrias navales, textiles, fibrocemento, automoción, etc.).

**Mesotelioma maligno:** Es un tumor maligno del mesotelio (fina membrana que rodea al pulmón y a otros órganos internos) que puede afectar a la pleura y al peritoneo en el 80% y 20% de los casos respectivamente. Suele tener un tiempo de latencia de entre 20 y 40 años. El mesotelioma pleural cursa con derrame pleural, disnea y dolor torácico. El mesotelioma aparece con independencia del hábito tabáquico (Sinninghe-Damsté *et al.*, 2007). **Cáncer de pulmón:** Parece existir una relación dosis-respuesta entre el riesgo de contraer cáncer de pulmón y el nivel de exposición al asbesto; exposiciones muy bajas parecen no incrementar el riesgo. La enfermedad del pulmón debida al asbesto en el aire dependen de varios factores: Duración de la exposición, tiempo transcurrido desde el comienzo de la exposición y si se es fumador y presenta un período de latencia largo manifestandose de 15 a 40 años después de la exposición. Entre los síntomas que aparecen son pérdida de apetito y de peso, cansancio, dolor torácico, hemoptisis de sangre. El riesgo de cáncer de pulmón se incrementa notablemente si la exposición al asbesto se combina con el hábito tabáquico (Albin *et al.*, 1999).

**Arsénico.** El arsénico es un elemento natural ampliamente distribuido en la corteza terrestre, en el ambiente, se combina con oxígeno, cloro y azufre para

formar compuestos inorgánicos de arsénico. El arsénico en animales y en plantas se combina con carbono e hidrógeno para formar compuestos orgánicos de arsénico. Los compuestos inorgánicos de arsénico se usan principalmente para preservar madera. El arsenato cromado de cobre (CCA) se usa para producir madera "presurizada." El uso residencial del CCA se discontinuó en los Estados Unidos, pero aún tiene usos industriales. Los compuestos orgánicos de arsénico se usan como plaguicidas, principalmente en cosechas de algodón y huertos frutales. En el medio ambiente se puede encontrar naturalmente en el suelo y en minerales y, por lo tanto, puede dispersarse por aire, agua y a suelos en otras áreas en polvo que levanta el viento y puede entrar al agua en efluente de lluvia o en agua que se filtra a través del suelo. El arsénico no puede ser destruido en el ambiente, solamente puede cambiar de forma, la lluvia y la nieve remueven las partículas de polvo con arsénico del aire, muchos compuestos comunes de arsénico pueden disolverse en agua. La mayor parte del arsénico en el agua terminará eventualmente en el suelo o el sedimento, donde peces y mariscos pueden tomarlo y acumularlo. Afortunadamente la mayor parte de este arsénico está en una forma orgánica llamada arsenobetaína, que es mucho menos peligrosa ([http 2](#)). La intoxicación aguda accidental por arsénico se observaba en personas en contacto con plaguicidas (fundamentalmente los del cultivo de la vid), o que trabajan en la industria de la madera, el vidrio, la cerámica y el metal. El arsénico también se encuentra presente en aditivos alimentarios para el ganado, algunas especies de pescado, alcohol destilado ilegalmente, agua contaminada y fármacos, principalmente antineoplásicos. La vía de intoxicación más frecuente es la oral, ya que se trata de un compuesto inodoro e insípido, sin embargo, la exposición profesional a los compuestos de arsénico inorgánico puede producirse por inhalación donde se deposita sobre la mucosa respiratoria, se transfiere al tracto gastrointestinal, donde se absorbe, con la consiguiente absorción. La toxicidad del arsénico depende de su estado de oxidación y solubilidad. La forma inorgánica trivalente soluble (trióxido arsenioso, arsenito sódico) es la más tóxica, seguida de la pentavalente (pentaóxido arsénico, arseniato de plomo) y la orgánica. Se absorbe casi por completo en el tubo digestivo y, por su alta liposolubilidad, es rápidamente distribuido a los tejidos periféricos (pico de niveles séricos entre 30 y 60

minutos post ingesta). Su mecanismo de acción principal es la unión a grupos sulfhidrilo, inhibiendo la acción de enzimas que intervienen en la fosforilación oxidativa celular. Como consecuencia, se produce un daño endotelial difuso, vasodilatación, trasudación masiva y congestión de todos los órganos. Posteriormente, el arsénico sufre metilación hepática a compuestos menos tóxicos y es excretado, fundamentalmente, por la orina y, en pequeña proporción, por bilis, heces, pelo, piel y leche (Martínez-Barbeito *et al.*, 2007). Por otra parte, la IARC sitúa al arsénico inorgánico en su clasificación más alta de sustancias cancerígenas (Grupo I). El Grupo de Evaluación del Cáncer de la Environmental Protection Agency (EPA), coloca al arsénico dentro de los primeros cuatro clasificados por su potencia para producir cáncer y lo sitúa en el grupo A, que corresponde a la categoría más elevada para los productos químicos generadores de cáncer (Hernández-Zavala *et al.*, 2008).

*Cáncer y Contaminación atmosférica.* Según la IARC los factores medioambientales más altamente relacionados con cáncer son: contaminación atmosférica, hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH), metales pesados, asbestos, radiación, pesticidas y disruptores endocrinos (WHO, 2011), es por eso que se debe de describir las fuentes de contaminación atmosférica de origen antropogénicos las que son básicamente de dos tipos: **estáticas**: a su vez pueden subdividirse en fuentes zonales (producción agrícola, minas y canteras, zonas industriales), fuentes localizadas y zonales (fábricas de productos químicos, productos minerales no metálicos, industrias básicas de metales, centrales de generación de energía) y fuentes municipales (p. ej., calefacción de viviendas y edificios, incineradoras de residuos municipales y fangos cloacales, chimeneas, cocinas, servicios de lavandería y plantas de depuración), y **móviles**: como los vehículos con motor de combustión (p. ej., vehículos ligeros con motor de gasolina, vehículos pesados y ligeros con motor diesel, motocicletas, aviones incluyendo fuentes lineales con emisión de gases y partículas del conjunto del tráfico de vehículos). También se deben considerar las fuentes de contaminación natural: (p. ej., zonas erosionadas, volcanes, ciertas plantas que liberan grandes cantidades de polen, focos bacteriológicos, esporas o virus).



Los contaminantes atmosféricos se clasifican normalmente en: partículas en suspensión (polvo, nieblas, humos), contaminantes gaseosos (gases y vapores) y olores. A continuación se indican algunos de los contaminantes más frecuentes: Las partículas en suspensión (SPM, PM-10) incluyen gases de escape de motores diesel, cenizas en suspensión, polvos minerales (carbón, amianto, caliza, cemento), polvos y humos metálicos (zinc, cobre, hierro, plomo), nieblas ácidas (ácido sulfúrico), fluoruros, pigmentos, nieblas de pesticidas, hollín y humos. Las partículas en suspensión, además de sus efectos respiratorios corrosivos, cancerígenos, irritantes y destructores de la vida vegetal, producen también daños materiales (p. ej., acumulación de suciedad), interfieren con la luz del sol (p. ej., formación de nieblas que dificultan la penetración de los rayos solares) y actúan como superficies catalíticas para la reacción de las sustancias químicas adsorbidas. Los contaminantes gaseosos incluyen compuestos azufrados (p. ej., dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) y trióxido de azufre (SO<sub>3</sub>), monóxido de carbono, compuestos nitrogenados (p. ej., óxido nítrico (NO), dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), amoníaco), compuestos orgánicos (p. ej., hidrocarburos (HC), compuestos orgánicos volátiles (COV), hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), aldehídos), compuestos halogenados y haluros (p. ej., HF y HCl), sulfuro de hidrógeno, bisulfuro de carbono y mercaptanos (olores). Estos compuestos pueden generar contaminantes secundarios a través de reacciones térmicas, químicas o fotoquímicas. Por ejemplo, por la acción del calor, el dióxido de azufre puede oxidarse, convirtiéndose en trióxido, que, disuelto en agua, da lugar a la formación de una niebla de ácido sulfúrico (catalizado por óxidos de manganeso y hierro). Las reacciones fotoquímicas entre los óxidos de nitrógeno y los hidrocarburos reactivos pueden producir ozono (O<sub>3</sub>), formaldehído y nitrato de peroxiacetilo (PAN); asimismo, las reacciones entre formaldehído y el ácido clorhídrico forman el éter bisclorometílico (Straif *et al.*, 2009).

En las zonas urbanas los vehículos de motor pueden aumentar considerablemente la contaminación del aire, específicamente ciertas sustancias liberadas por los vehículos están clasificados como cancerígenos para los humanos (Grupo 1, IARC) y probablemente cancerígeno para los humanos (Grupo 2<sup>a</sup>, IARC) (IARC, 1989). Los estudios epidemiológicos han

encontrado un riesgo mayor de cáncer de pulmón entre los residentes urbanos y las personas que viven cerca de centros industriales en comparación con las personas que viven en las zonas rurales (Choen, 2000). Se han llevado a cabo grandes estudios de cohorte sobre la contaminación atmosférica y la mortalidad en varias áreas metropolitanas de los Estados Unidos, mostrando un aumento significativo de la mortalidad por cáncer de pulmón (Dockery *et al.*, 1993; Pope 1995). Algunas sustancias químicas como el benceno también se pueden encontrar en las emisiones de reabastecimiento de combustible cerca de las estaciones de la presentación de la gasolina y el interior de los vehículos. El benceno se ha demostrado que causa la leucemia mieloide aguda y se sugiere que se asocia con leucemia linfoblástica, el linfoma no Hodgkin y mieloma múltiple (Vaanderen, 2011).

La quema de combustibles fósiles y de madera en los hogares producen hidrocarburos aromáticos policíclicos, aumentando el riesgo de cáncer de pulmón y otros tipos de cáncer. El uso de carbón en los hogares, y en cierta medida en las escuelas, es especialmente amplia en China, donde la asociación entre el cáncer de pulmón en hombres y mujeres y cocinar con estufas de carbón a cielo abierto ha sido mostrado consistentemente en múltiples estudios (Smith *et al.*, 2004).

*Cáncer y Radiación.* La radiación ionizante es probablemente el grupo de cancerígenos más intensamente estudiados y están clasificados dentro del grupo 1 por la IARC ([http 1](http://1), IARC) y proviene de diversas fuentes como la mina, militar, industria e incluso médicas. La radiación probablemente induce el 2% de todos los cánceres, si bien en su mayoría son de piel y oculares. Se llama **radiación** a toda energía que se propaga en forma de onda a través del espacio. En el concepto radiación se incluye, pues, la luz ultravioleta a los rayos X o la energía fotónica (**radiaciones ionizantes**), y desde la luz visible a las ondas de radio y televisión (**radiaciones no ionizantes**). Dentro de las **radiaciones ionizantes** se encuentran las electromagnéticas, (rayos ultravioleta- UV y X) y las partículas subatómicas (electrones, neutrones y protones) y dependiendo de las partículas que se emitan se habla de alfa, beta y gamma (WHO 2011, de Gruijl *et al.*, 2003). La radiación alfa queda frenada en las capas exteriores de la piel y no representa peligro, a menos que se

introduzca directamente a través de heridas, alimentos, etc. La radiación beta es más penetrante, introduciéndose uno o dos centímetros en los tejidos. La radiación gamma o electromagnética de alta energía es capaz de penetrar profundamente en los tejidos, sin embargo, libera menos energía en el tejido que el alfa o la beta. La interaccionan con los átomos y moléculas que se van encontrando a su paso es lo que las hacen mucho más nocivas. Las radiaciones ionizantes se comportan como un cancerígeno dosis-dependiente y sin umbral, es decir dosis incluso cotidianas pueden desencadenar un cáncer al acumularse. Cuando se trata de exposición a grandes dosis, el perfil temporal de riesgo difiere según el tipo de cáncer: para la leucemia aumenta rápidamente en los primeros años, declinando después, en los tumores sólidos el riesgo aumenta lentamente con el paso del tiempo.

Dentro del espectro ultravioleta que alcanza la superficie de la tierra, los componentes más problemáticos son los rayos ultravioleta de alta frecuencia en su espectro se distinguen tres zonas;

- UVA (u Onda larga): 230 a 400nm, son los de mayor frecuencia y energía.
- UVB (o de Onda media): 320 a 290 nm, causan por si solos cánceres de piel, debido a que induce daño estructural al ADN.
- UVC (o de Onda corta): 290 a 200 nm. Por su mayor energía son los más peligrosos para la salud.

Las fuentes de radiación ultravioleta son naturales (el sol, cuyo espectro de radiación posee la mayor potencia de inducción de cáncer de piel y está clasificado por la IARC dentro del grupo 1) y artificiales (hospitales, industrias, cosméticos). La radiación UVC no alcanza la superficie terrestre, ya que queda retenida por la capa de ozono en la estratosfera. La radiación natural que llega es por tanto UVA y UVB (IARC, 2011).

El efecto cancerígeno de los rayos UV está ligado a la longitud de onda y el tipo de piel, con más riesgo en personas con piel clara y menos en las más pigmentadas. Los rayos UV tienen efecto cancerígeno directo iniciador y promotor, sobre la piel, ya que al mismo tiempo que estimula la proliferación de

la epidermis induce daño al ADN, por lo tanto, influye en el desarrollo tanto de epiteliomas como de melanomas que son los más agresivos de todos los tipos de cánceres de piel. En los primeros parece más importante la radiación de fondo acumulativa, ocupacional, por ejemplo; en los melanomas tendría mayor efecto la exposición intermitente recreacional (Elwood, 1985). Muchos investigadores creen que la frecuencias de quemaduras solares durante la infancia, más que la exposición acumulativa a la luz solar es el factor clave en el desarrollo del melanoma, por tanto, las personas que se broncean, pero no se queman, tienen mucho menos riesgo. Si bien, con el uso de filtros solares disminuye la frecuencia de mutaciones, disminuye el daño al ADN, así como el foto-envejecimiento, dado que aparentemente estos filtros previenen de lesiones precancerosas (de Gruijl, 2003).

Estimaciones más recientes han calculado que por cada reducción de un 1% en la capa de ozono, la radiación UVB/UVC aumentara en un 2 %, y el cáncer de piel en un 2 a 6% (de Gruijl, 2003).

Por otra parte, la radiación que viene de los materiales y reacciones nucleares es suficientemente energética para ionizar moléculas y es incuestionablemente carcinogénica según las investigaciones realizadas en sobrevivientes de los explosiones nucleares de Hiroshima y Nagasaki (Linnet, 2000). Por otra parte, se observó que en algunas poblaciones cercanas a plantas nucleares incrementó la frecuencia de leucemias en gente joven. Posteriormente un estudio epidemiológico más extenso por alrededor de 25 años y por diferentes partes del mundo, concluyó que no existe tal riesgo; sin embargo, es importante hacer notar que la exposición-radiación induce anormalidades cromosómicas en gametos humanos, por lo tanto, el tratamiento de pacientes con cáncer mediante radioterapia (RT) favorece el incremento del riesgo (IARC, 1992)

La **radiación no ionizante**, como la generada por los campos electromagnéticos, en la atmósfera durante las tormentas eléctricas se ha asociado con incremento de la frecuencia de cáncer. A los campos eléctricos y magnéticos naturales se agregan un amplio número de campos artificiales

creados por maquinaria industrial, líneas eléctricas, electrodomésticos, que nos exponen a diario a más fuentes de radiación. Esta radiación antropogénica es mucho más débil que los campos de radiación natural pero en los sectores electrónico, ferroviario y de telecomunicaciones la exposición es continua.

Otra fuente de radiación es el radón, un gas radioactivo incoloro e indoloro que es emitido de la tierra en algunas regiones. La inhalación prolongada del gas a muy altas concentración, encontrada principalmente en minas, ha sido asociada a una incidencia elevada de cáncer de pulmón. Ésta no es una causa significativa de cáncer en la población general, sin embargo, los niveles de radón son generalmente disminuidos mejorando la ventilación de una construcción o mina (WHO, 2009; WHO, 2009a).

Los campos magnéticos, eléctricos o las emanaciones de radio generados por teléfonos celulares, líneas de poder y aparatos caseros eléctricos que oscilan a 60 ciclos por segundo, son campos de frecuencia extremadamente baja. Hasta el momento, la evidencia encontrada es confusa y generalmente muy polémica respecto a si ocasionan cáncer o no, dado que una mutación genética causante de cáncer no puede ser inducida por esta cantidad de radiación. Estudios epidemiológicos han indicado que poblaciones próximas a líneas de alta tensión pueden aumentar el riesgo de enfermarse por leucemia en la infancia además de tumores cerebrales y otros cánceres.

*Tabaquismo y Cáncer de Pulmón.* El consumo de tabaco parece ser el mayor riesgo hasta ahora identificado y se le considera responsable de la tercera parte de las muertes por cáncer. Los individuos fumadores expuestos a otros cancerígenos tienen, además, un riesgo mayor de contraer cáncer que los no fumadores, como lo muestran diversos estudios, entre ellos los realizados en trabajadores de fábricas de asbesto o consumidores de alcohol en cantidades importantes. El cáncer de pulmón es la causa principal de muerte entre los hombres de todos los grupos raciales, excepto entre las mujeres indígenas hispanas, de USA y Filipinas. Los hombres afroamericanos y las mujeres indígenas de Alaska tienen las tasas más altas de incidencia y de mortalidad debido al cáncer de pulmón. El riesgo de muerte por cáncer pulmonar es 22

veces mayor en hombres y 12 veces más en mujeres fumadoras, en comparación con personas que nunca han fumado. Sólo en los USA, aproximadamente el 30% de las muertes por cáncer anualmente son atribuidos al tabaco (ACS, 1996). Numerosos estudios han demostrado que el fumar cigarrillos produce cáncer de pulmón, laringe, faringe, cavidad oral, esófago, vejiga, riñón y páncreas. Además, estudios adicionales sugieren una fuerte asociación entre fumar y el cáncer de cérvix y probablemente de estómago, hígado y riñón. Sin embargo, el cáncer de pulmón no es un evento inevitable para todos los fumadores de tabaco, dado que puede originarse por factores exógenos y endógenos, se ha sugerido la existencia de susceptibilidad individual al desarrollo de éste, (del 10-15 % de los fumadores de cigarro desarrollan cáncer de pulmón), estudios epidemiológicos demuestran incremento en el riesgo de cáncer de pulmón en algunas familias, lo que sugiere una predisposición genética, originada por la variación interindividual que existe en la capacidad de metabolizar sustancias tóxicas, como los subproductos de la combustión del tabaco. Paralelamente se observa que existen diferencias étnicas y una variación interindividual en la incidencia de cáncer de pulmón; en negros, la incidencia es 50% más alta que en caucásicos, lo que sustenta un importante papel genético y medioambiental (El-Zein *et al.*, 1997; ACS, 1996; Hirvonen *et al.*, 1996; Pascual-Guardia *et al.*, 2013).

*Cáncer por exposición ocupacional.* Ya desde 1775, el cirujano Percival Pott estableció la primera correlación conocida entre un agente ambiental y el desarrollo de cáncer, al concluir que la elevada incidencia de cáncer en la cavidad nasal y la piel del escroto, observada en limpiadores de chimeneas, se debía a una exposición crónica de hollín (Brown, 1957).

Hoy en día es bien conocido que varias actividades humanas incrementan la contaminación, como es el uso de aerosoles; que debilitan la capa de ozono, el desecho de plásticos, uso de fertilizantes, la combustión de hidrocarburos, algunos agentes químicos, residuos de las minas, pesticidas y desechos urbanos, afectan ecosistemas marinos y posteriormente, dañan al hombre a través de cadenas tróficas. También se observa que diversos químicos ambientales e industriales causan daño en animales experimentales y que

gentes físicos, como las radiaciones provocan daño celular y mutaciones, por lo tanto, este potencial para efectos similares en el hombre es obvio y el daño se asocia generalmente a algún padecimiento clínico (Boyle, 2008).

Los estudios de exposición ocupacional en el lugar de trabajo han contribuido de forma muy importante al entendimiento de la carcinogénesis humana. La IARC provee una revisión de la exposición ocupacional y otros factores cancerígenos, y calculó los factores ocupacionales: el 31% es clasificado como suficiente el 42 % como probable y el 42 % como posible cancerígeno para el hombre. En esta lista aparece el dióxido de titanio y carbón negro como posibles, el formaldehido como suficiente, el cobalto y sus derivados como probable (IARC, 2011).

*Estrategias de prevención ambiental y ocupacional.* Es una meta para los científicos utilizar la susceptibilidad individual al ambiente en las políticas que rigen la Salud Pública, ante esto se plantean las siguientes estrategias (Landrigan *et al.*, 2011; Christiani, 2011):

- 1) Prevención primaria; la estrategia más simple y efectiva, sería que se paren las emisiones de contaminantes causantes del cáncer, esta estrategia por si sola reduciría las incidencia de cáncer, salvaría de vidas y billones de pesos (Landrigan *et al.*, 2011).
- 2) Reducción de la exposición a cancerígenos, a través de la regulación de la eliminación de dichos compuestos.
- 3) Ayuda individual, a través de la modificación estilos de vida dañinos (no fumar, evitar agentes infecciosos, atención médica oportuna) y el uso de quimio-prevención, (comer alimentos que contrarresten a los agentes cancerígenos, consumir antioxidantes y hacer ejercicio).
- 4) Acudir al médico en caso de la observación de cambio en la piel, modificación de lunares, realizarse un citología vaginal con frecuencia o bien el examen de próstata, así como mamografías frecuentes después de los 40 años.

## **Bibliografía**

- Albin M, Magnani C, Krstev S, Rapiti E, Shefer I: Asbestos and cancer: An overview of current trends in Europe. *Environ Health Perspect.* (1999) 107: 289-298.
- American Cancer Society, Inc. *Cancer Facts and Figures.* Atlanta: American Cancer Society. (1996).
- Becklake MR, Bagatin E, Neder JA: Asbestos-related diseases of the lungs and pleura: uses, trends and management over the last century. *Int J Tuberc Lung Dis.* (2007) 11: 356-369.
- Bearer, CF. How are children different from adults? *Environ Health Perspect.* (1995) 103(suppl 6): 7-12).
- Belpomme D, Irigaray P, Hardell L, Clapp R, Montagnier L, Epstein S, Sasco AJ. The multitude and diversity of environmental carcinogens. *Environ Res.* (2007) Nov; 105(3): 414-29
- Boffetta P. Cancer. *Cancer de origen ambiental.* En Mager Stellman J. *Enciclopedia de Salud y seguridad en el trabajo.* Edita y distribuye: Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales Subdirección General de Publicaciones. Madrid. (1998) 2.12
- Bowman WC, Rand MJ. *Farmacología: Bases bioquímicas y patológicas aplicaciones clínicas,* 2a ed, Interamericana, México, D.F. (1984).
- Boyle P, Levin B. *World Cancer Report (2008). Etiology of Cancer.* IARC.2008.
- Brown JR, Thornton JL. Percivall Pott (1714-1788) and Chimney Sweepers' Cancer of the Scrotum. *British Journal Industrial Medicin.* 1957. 14(1): 68-70.
- Christiani DC. Combating environmental causes of cancer. *New England Journal of Medicine* (2011). 364: 791-793.
- Cohen, A.J., Outdoor air pollution and lung cancer. *Environ Health Perspect,* (2000). 108 Suppl 4: p. 743-50.
- Collins K, Jacks T, Pavletich NP. The cell cycle and cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (1997). 94; 2776-2778.
- Curado PM, Edwards B, Shin HR, Storm H, Ferlay J, Heanue M, Boyle P. *Cancer Incidence in Five Continents Vol. IX. IARC Scientific Publication No. 160.* (2011). <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/epi/sp160/index.php>.
- Danaei G, Vander Hoorn S, Lopez AD, Murray CJ, Ezzati M; Comparative Risk Assessment Collaborating Group (Cancers).. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *Lancet.* (2005). 366(9499):1784-1793.
- Dockery, D.W., Pope C.A., Xu X, Spengler J. D., Ware J.H., Fay M.E. Ferris BG Jr., Speizer Fe. (1993). An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. *N Engl J Med,*. 329 (24): 1753-9. p.
- Domínguez Boada L. Principios generales de carcinogénesis: Carcinogénesis química y hormonal. *Biocáncer;* (2004) (1). 1-9.
- De Gruijl, F.R., et al., Health effects from stratospheric ozone depletion and interactions with climate change. *Photochem Photobiol Sci,* 2003. 2(1): p. 16-28.
- EPA. U.S. Toxics Release Inventory Public Data Release. EPA 260-R-01-001. (2001) (<http://www.epa.gov/tri/tridata/tri01/>).



Elwood, J.M., et al., Cutaneous melanoma in relation to intermittent and constant sun exposure-the Western Canada Melanoma Study. *Int J Cancer*, (1985). 35(4): 427-33.

El-Zein R, Conforti-Froes N, Au W. W. (1997). Interactions between genetic predisposition and environmental toxicants for development of lung cancer. *Environ Mol Mutagen*. 30: 196-204.

Espinosa Restrepo MT, Rojas Hurtado MP, Bernal Camacho ML, Araque García A, Vélez Osorio, López Camargo JM. Manual de agentes carcinógenos de los grupos 1 y 2A de la IARC, de Interés ocupacional para Colombia. Ministerio de la Protección Social. República de Colombia. Bogotá, D.C., julio de (2006).

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C Parkin DM. (2010). Cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase. No 10 (Internet. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available: <http://globcan.iaarc.fr>.

Hernández LG, Rubio C. Frías I, Gutiérrez A, Hardisson A. Toxicología del asbesto. *Toxicology of asbest. Cuad Med Forense* (2009) 15(57):207-213.

Hernandez-Zavala A, Valenzuela OL, Matoušček T, Drobná Z, Deřina J, Gonzalo, García-Vargas G, Thomas DJ, Del Razo LM, Stýblo M. Speciation of Arsenic in Exfoliated Urinary Bladder Epithelial Cells from Individuals Exposed to Arsenic in Drinking Water. *Environmental Health Perspectives*. (2008). 116. 1656-1660.

Hirvonen A, Pelin K, Tammilehto L, Kararjalainen A, Mattson K, Linhainmaa K. Inherited GSTM1 and Nat2 defects as concurrent risk modifiers in asbestos related human malignant mesothelioma. *Cancer Res*. (1996). 55: 2981-2983.

HTTP 1.-<http://www.iaarc.fr>. The International Agency for Research on Cancer (IARC). Consultada el 14 de octubre (2011).

HTTP 2.-<http://www.csa.com/discoveryguides/discoveryguides-main.php>

HTTP 3.-International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Preamble. Lyon, Francia: IARC; (2006). Disponible en URL: <http://www.cie.iaarc.fr/monoeval/preamble-new-06.pdf>.

IARC (International Agency for Research on Cancer). (2011). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Available: (<http://monographs.iaarc.fr/ENG/Monographs/PDFs/index.php> [accessed 9 June] (2011).

IARC, Diesel and Gasoline Engine Exhausts and Some Nitroarenes. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 46. (1989). Lyon: IARC.

Irigaray P, Newby JA, Clapp R, Hardell L, Howard V, Montagnier L, Epstein S, Belpomme D. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy* (2007). ( 61); 10. 640-658.

Landrigan PJ, Espina C, Neira M. Global Prevention of Environmental and Occupational Cancer. *Environmental Health Perspectives*. (2011). 119:(7). 280- 281.

Linnet MS. Evaluation of cancer epidemiology. *Epidemiol Rev*. (2000). 22:1:35-51.

Lutz-WK, Fekete-T. Endogenous and exogenous factors in carcinogenesis. Limits to cancer prevention: límites para la prevención del cáncer. *Int-Arch Occup-Environ-Health*. (1996). 68:(2) .120-125.

Marinaccio A, Branchi C, Massari S, Scarselli A. (2006). National epidemiologic surveillance systems of asbestos-related disease and the exposed workers register. *Med Lav*. 97: 482-487.

Martínez-Barbeito BM, Nuñez Aceves AB, Laín Teres N, Gimeno Martín R, Quintanar Verdúguez T, Pangua Méndez C. (2007). Intoxicación aguda por arsénico con inusual evolución favorable. *Emergencias*. 19:225-228.

Martín de Civetta, M.T. y Domingo Civetta, J. (2011). Carcinogenesis. *Salud Publica Mex*. 53:405-414.

Massagué J. Evolución y metástasis del cáncer. *SEBBM*. (2009). 160: 22-26.

Melnick-RL, Kohn-MC, Portier-CJ. Implications for risk assessment of suggested nongenotoxic mechanisms of chemical carcinogenesis *Environ-Health-Perspect*. (1996). 104; 1: 123-34.

Pascual-Guardia S, Wodja E, Gorostiza A, López de Santamaría E, Gea J, Gáldiz JB, Sliwinski P, Barreiro E. (2013). Improvement in quality of life and exercise capacity without muscular biology changes after general training in patients with severe chronic obstructive pulmonary disease. *Med Clin*.140: 200-6.

Perera FP. Environ and cancer. Who are susceptible ?. *Science*. (1997). 28: 1068-1073.

Pfeifer GP. Environmental exposures and mutational patterns of cancer genomes. *Pfeifer Genome Medicine*. (2011).2: 54-57.

Pope, C.A., 3rd, et al., Particulate air pollution as a predictor of mortality in a prospective study of U.S. adults. *Am J Respir Crit Care Med*, (1995). 151(3 Pt 1): p. 669-74.

Prüss-Üstün, A. and C. Corvalán, Preventing disease through healthy environments. Towards an estimate of the environmental burden of disease. (2006). WHO.

Quezada Ramiírez MA. El ciclo celular, sus alteraciones en el cáncer y como es regulado en células troncales embrionarias. *Contactos*. (2007) 65, 5–12.

Roggli VL, Vollmer RT: Twenty-five years of fiber analysis: what have we learned. *Hum Pathol*. (2008) 39: 307-315.

Rothman N., Wacholder S, Caporaso NE, Garcia-Closas M, Buetow K, Fraumeni JF Jr. The use of common genetic polymorphisms to enhance the epidemiologic study of environmental carcinogens. *Biochim Biophys Acta*, (2001). 1471(2): C1-10.

Secretaria de Salud. NORMA Oficial Mexicana NOM-041-SSA2-2002, para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama.2002.

Secretaria de Salud, Jalisco. REGISTRO ESTATAL DE CANCER, J A L I S C O (2009). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>.

Siemiatycki, J., et al., Listing occupational carcinogens. *Environ Health Perspect*, (2004). 112(15): 1447-59.

Sinninghe-Damsté HE, Siesling S, Burdorf A: Environmental exposure to asbestos in the area around Goor has been established as the cause of pleural mesothelioma in women. *Ned Tijdschr Geneesk*. (2007); 151: 2453-2459.

Sijmons RH ed. Familial Cancer Database. <http://www.facd.info>.

Smith, K.R. and Y. Liu, Indoor air pollution in developing countries, in *Epidemiology of lung cancer*, S. J, Editor Dekker: New York.(1994). p. 151-184.

Smith, K.R., S. Mehta, and M. Feuz, Indoor smoke from household solid fuels, in Comparative quantification of health risks: Global and regional burden of disease due to selected major risk factors, R.A. Ezzati M, Lopez AD, Murray CJL, Editor. WHO: Geneva. (2004).

Straif, K., Benbrahim-Tallaa L, Baan R, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, Guha N, Freeman C, Galichet L, Coglianò V. A review of human carcinogens—part C: metals, arsenic, dusts, and fibres. *Lancet Oncol*, (2009). 10(5):p. 453–454.

Torres Bugarín O. (2013). Carcinogenesis Ambiental. En: Genética ambiente y salud. Ed. Alvarez- Moya C.75-98 Pp.

Valdespino V, Valdespino Castillo P. Mecanismos epigenéticos celulares y sus alteraciones en cáncer. *GAMO*. (2008). 7: 3. 80-92.

Vlaanderen, J., et al. Occupational benzene exposure and the risk of lymphoma subtypes: a meta-analysis of cohort studies incorporating three study quality dimensions. *Environmental Health Perspectives*. 2011. 119:159-167.

Visvander JE. Cells of origin in cancer. *Nature*. 2011.469: 314-322.

WHO (World Health Organization). 2008. 2008–2013 Action Plan for the Global Strategy for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases. Available: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241597418\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241597418_eng.pdf) [accessed 9 June 2011].

WHO, WHO Handbook on Indoor Radon. A Public Health Perspective. 2009, Geneva:

WHO. 44. WHO. Radon and cancer. Fact sheet N°291. 2009a [cited; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs291/en/>].

WHO. Cancer Prevention Programme. (2010) Available from: <http://www.who.int/cancer/en/>.

WHO. An overview of the evidence on environmental and occupational determinants of cancer, On: WHO. International conference on Environmental and occupational determinants of cancer: Interventions for Primary Prevention. (2011). 1-7.

## SISTEMAS PARA LA DETECCIÓN DE DAÑO GENÉTICO

### Introducción

En toxicología genética se acepta que una sola prueba es incapaz de detectar con exactitud o predecir en forma confiable los efectos genotóxicos de una sustancia en el humano (Jena y Bhunya, 1995). Por eso es importante disponer de diversas alternativas de estudios tanto *in vivo* como *in vitro* para probar genotóxicos.

La correlación entre mutagenicidad y carcinogenicidad es cada día más aceptada. Un estudio demostró que 157 de 175 carcinógenos conocidos (el 90% aproximadamente) también son mutágenos (Griffiths *et al.*, 1993), lo que evidencia la importancia de saber con precisión el daño que un compuesto puede causar en nuestro organismo o en otros seres vivos.

El monitoreo de los contaminantes por análisis directo requiere de gran precisión y de un conocimiento amplio del agente químico que se va a verificar; además, su evaluación es limitada por la sensibilidad y especificidad del método utilizado. Ante esto, los bioensayos ofrecen ventajas ya que un organismo dado puede procesar o metabolizar un compuesto cualquiera a otros que pueden ser aún más tóxicos (Rodríguez-Ariza *et al.*, 1992). Diversos químicos ambientales e industriales causan daño en animales experimentales con resultados consistentes. Este potencial de causar efectos similares en el hombre es obvio.

Las pruebas para la detección de mutágenos son de gran importancia ya que estos compuestos tienen la capacidad de alterar material genético en los organismos, incluyendo el hombre (Plewa y Gentile, 1982); además, pueden tener efectos teratogénicos (Luck, 1977), causar mutaciones en células germinales (Plewa y Gentile, 1982), inducir enfermedades cardíacas (Plewa y Gentile, 1982; Venitt *et al.*, 1986), influir en procesos de envejecimiento (Plewa y Gentile, 1982) e inducir mutaciones en células somáticas que pueden

desarrollar cáncer (Ames, 1985; Ames *et al.*, 1985; Quillardet y Hofnung, 1985; Kier *et al.*, 1986).

Se conoce actualmente una gran batería de pruebas para determinar daño genético o detectar compuestos genotóxicos; estas pruebas pueden ser bioquímicas, se pueden realizar *in vivo* o *in vitro*, con micro o macroorganismos, pueden determinar daño microscópico (pruebas citogénéticas) o a nivel molecular, como se logra al estudiar algunos polimorfismos genéticos (que se sabe se asocian con el desarrollo de algunos tipos de cáncer) o bien el estudio de la formación de aductos (Han *et al.*, 1995; Seraj *et al.*, 1996).

Cientos de nuevos compuestos químicos aparecen en el mercado cada semana, ¿cómo puede comprobarse la carcinogenicidad de un número tan amplio de nuevos agentes antes de que la población se exponga a ellos? (Griffiths *et al.*, 1993).

En el presente capítulo abordaremos sólo algunas de estas pruebas: el cariotipo, el estudio del índice mitótico, el intercambio de cromátides hermanas, la prueba de micronúcleos, el ensayo cometa, el estudio de la inducción de apoptosis y la prueba de Ames, tratando de dar un panorama general de sus ventajas y limitaciones.

Es importante antes de decidir el tipo de prueba a utilizar determinar los recursos con los que se cuenta lo que permitirá elegir la prueba más adecuada; ya que existen algunas económicas y rápidas, pero también las hay sumamente costosas.

### **Cariotipo**

El método clásico para observar daño citogénético es el examen de preparaciones en metafase de células tratadas con el agente que se va a probar *in vivo* o *in vitro*. Entre las pruebas citogenéticas, el cariotipo es la más precisa. Ésta consiste en obtener los cromosomas metafásicos del organismo a estudiar y mediante la observación al microscopio con el objetivo de inmersión 100x, determinar si el número de cromosomas observados corresponde al de la especie y, mediante técnicas de bandeo, revisar cada uno de los cromosomas

para verificar que éstos se encuentren completos, por ejemplo se utiliza para evaluar quimerismo en células sanguíneas en los gemelos dicigóticos concebidos por fertilización *in vitro* (Martos-Moreno *et al.*, 2013).

El estudio es posible mediante el cultivo de linfocitos de sangre periférica o fibroblastos (Lee *et al.*, 1990), que es la manera común, o en forma directa (Baker, 1988; Lee *et al.*, 1990) mediante la obtención de médula ósea (Christidis, 1985), si bien en ocasiones a partir de médula ósea también se efectúan cultivos. En el primer caso se requiere de menor cantidad de equipo y reactivos ya que es indispensable una campana de flujo laminar para trabajar en condiciones estériles, una centrífuga, tubos o cajas de cultivo, así como medios de cultivo, algunos mitógenos y algunos otros compuestos como antibióticos y colchicina (Lee *et al.*, 1990). Para el segundo caso se requiere menor cantidad de reactivos y equipo. La obtención de cromosomas se hace generalmente a partir de la médula ósea; sin embargo, la extracción de médula se vuelve muy drástica ya que en la mayoría de los casos se requiere sacrificar al animal para poder trabajar con los huesos largos (los fémures o húmeros). La técnica, es pues, más sencilla y una vez obtenidos los huesos el procedimiento se reduce a cortar las epífisis de ellos por ambos lados y a pasar a través del hueso una solución que puede ser suero fetal, solución salina 0.9% o Ringer's isotónica (9.0 g NaCl, 0.42 g KCl, 0.24 g CaCl<sub>2</sub>, 0.20 g NaHCO<sub>3</sub>, 1000 ml de agua destilada) a 37°C (algunas veces es recomendable administrar colchicina al animal 1.5 horas antes del sacrificio, lo que permite obtener mayor número de metafases). La mezcla de médula y solución se centrifuga por cinco minutos a 1000 rpm, el sobrenadante se decanta y el botón se deja incubando en una solución hipotónica por 30 minutos, luego se centrifuga y se resuspende el botón en una solución de ácido acético-metanol (1:3), se centrifuga nuevamente, se decanta y el botón es resuspendido en un poco de la misma fijadora, para finalmente con ésta hacer los extendidos sobre portaobjetos limpios (Baker, 1988). La tinción puede ser con Giemsa o algunas otras técnicas de bandeó.

La técnica directa es posible en una gran cantidad de especies y en diversos tejidos; por ejemplo, en peces se puede utilizar, intestino, estómago, riñón y branquias (Kligerman *et al.*, 1975).

En plantas se emplea colchicina u 8-hidroxiquinoleína como agente detenedor de la metafase; en este caso el procedimiento consiste en hacer un aplastado de células (generalmente se utilizan los meristemos), una tinción con aceto-orceína o Feulgen y la observación al microscopio (Dyer, 1979; Rieger *et al.*, 1992).

Una técnica casi directa es la utilizada en algunas aves, de las que se obtiene la “pulpa” de las plumas (ya que presenta gran actividad mitótica), la cual es puesta en un medio de cultivo para su preparación por 10 a 20 minutos y posteriormente este tejido se fija con aceto-orceína y se tiñe por una a dos horas (Delhanty, 1989).

Como podemos darnos cuenta, el estudio mediante la observación de los cromosomas nos permite identificar nuevos agentes genotóxicos a nivel cromosómicos y el tipo de daño que éste pudiera ocasionar en los cromosomas. Desafortunadamente en el caso de los cultivos la técnica es costosa, consume mucho tiempo y las más de las veces requiere de la observación de un gran número de metafases para poder concluir que hay validez estadística (Heddle *et al.*, 1983; Heddle *et al.*, 1991).

Otros dos inconvenientes que presenta el cariotipo para el estudio de los genotóxicos son: a) se requiere cuando menos conocer la morfología de los cromosomas de la especie con la que se va a trabajar; b) muchas especies de aves, reptiles y anfibios presentan complementos cromosómicos muy grandes constituidos por macro y microcromosomas, lo cual, es muy frecuente y veces imposible de analizar (Duellman y Trueb, 1994; Takagi *et al.*, 1972).

Un eje de obtención de cromosomas a partir de un cultivo es el que se realiza en el zoológico de San Diego en aves con fines de sexado y reproducción; para tal fin, las aves en estudio son puestas en ayuno al menos tres horas antes de la toma de la muestra para evitar la contaminación de lípidos en ésta. Se toman 2 cc de sangre con una jeringa heparinizada de 5 ml (0.1 cc de heparina sódica) de la vena branquial y se mezclan con cuidado. La aguja se cambia por una nueva y estéril. Posteriormente se deja reposar la jeringa verticalmente con la aguja hacia arriba por un periodo de dos a tres horas. En un tubo de cultivo se adicionan 19 ml de medios de cultivo (Ham's F10), 1 ml de suero estéril de

pollo y 0.2 ml de heparina. Terminando el tiempo de reposo, se encurva cuidadosamente la aguja para poder adicionar al tubo la parte superior del contenido de la jeringa; las primeras gotas (que tienen células rojas) se descartan y se adiciona la mayor cantidad de suero posible de la jeringa, tratando de no incluir células rojas. Se divide el contenido en dos tubos y se adicionan mitógenos como *pokeweed* (0.3 ml), fitohemaglutinina (0.3 ml) y éster de forbol (0.4 ml). Los linfocitos que quedan en la jeringa se separan por medio de la técnica de Ficoll-Paque y los linfocitos purificados son divididos en los dos tubos e incubados a 30°C colocándolos dentro de la estufa en un ángulo de 30°. Una hora antes de cosechar la muestra se adiciona a los tubos 0.1 ml de colchicina y se reincuba; al finalizar el tiempo la muestra se centrifuga a 1,00 rpm durante 10 minutos. Se elimina el sobrenadante dejando 1 ml, el botón se resuspende mediante la adición de 5 ml de solución hipotónica a 30°C, se coloca el tubo a 40°C por 10 minutos. Posteriormente la muestra se centrifuga a 800 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante se elimina dejando 0.5 ml para resuspender el botón. Se adicionan 8 ml de solución fijadora fría (una parte de ácido acético y tres de metanol) y se centrifuga por 10 minutos a 800 rpm, el sobrenadante se elimina. La operación se repite para finalmente resuspender el botón en 0.3-0.5 ml de la solución fijadora y elaborar las laminillas (goteando la suspensión sobre éstas), la tinción se realiza con 1:4 giemsa 5% buffer.

Con algunas diferencias, pero con el mismo fundamento, esta técnica puede hacerse en infinidad de especies (Biederman y Lin, 1982; Haaf y Schmid, 1984; Park y Kang, 1979).

### **Índice mitótico**

Utilizando la misma técnica del caritipo es posible determinar el índice mitótico, para el cual es importante que el organismo de prueba no reciba ningún otro compuesto además del que se pretende valorar. El estudio del índice mitótico es más simple que el del cariotipo ya que sólo requiere determinar el número de metafases por número de células en el frotis, generalmente por 1,000 células consecutivas (Kligerman *et al.*, 1987); también se pueden utilizar cultivos, pero es más recomendable hacerlo de manera directa. El estudio se



puede hacer en diferentes especies (Bloom *et al.*, 1987) y la interpretación de los resultados nos indica si existe mayor o menor división celular (se deben tener los valores normales de la especie o al menos se comparan contra un grupo control). El resultado se traduce en una modificación en la velocidad de la división celular, la cual no necesariamente es provocada siempre por un agente genotóxico ya que el mismo efecto lo podemos observar cuando existe un compuesto netamente citotóxico, por lo que es recomendable utilizar alguna otra prueba además de esta como el efecto del tabaquismo materno durante el embarazo sobre el feto (Kareli *et al.*, 2014).

El uso del índice mitótico en cultivo de linfocitos ha sido propuesto como parámetro para tamizar actividad de medicamentos antineoplásicos (Rojas *et al.*, 1993).

### **Intercambio de cromátides hermanas**

Otra variante es el intercambio de cromátides hermanas, una prueba extremadamente sensible en animales y que detecta el daño producido por agentes genotóxicos (Lake *et al.*, 1979). El estudio utiliza cultivo de linfocitos con bromodeoxiuridina (Herrera *et al.*, 1992) o de manera directa inyectando o implantando pastillas de bromodioxouridina subcutáneamente en ratas en experimentación (Yamanaka *et al.*, 1979; McFee *et al.*, 1993). Esta técnica, al igual que la anterior, requiere de la interpretación de los resultados ya que se basa en la tinción diferencial de las cromátides de los cromosomas (se puede diferenciar la cromátide nueva de la vieja); éstas se entrecruzan de manera espontánea (de ahí el nombre de intercambio de cromátides hermanas) y el resultado es un cromosoma con cromátides compuestas por segmentos claros y oscuros (también denominados cromosomas arlequín). El número de intercambios es determinado para la especie y con esto si el compuesto que se va a probar tiene algún efecto sobre los cromosomas, alterará el número de intercambios en el individuo. El procedimiento consiste en adicionar al medio de cultivo, 24 horas después de la siembra de los linfocitos, 5-bromo-timidina (Salamanca *et al.*, 1990). La prueba responde mejor con compuestos que inducen la reparación-excisión del ADN que con aquellos que no tienen este efecto (Yamanaka *et al.*, 1979).

## La prueba de micronúcleos

Más económica y clara es la prueba de micronúcleos (MN), la cual, por sus características, permite obtener información precisa del compuesto que se va a estudiar. Ha sido extensamente utilizada para evaluar anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral, inter-individual diferencia en la respuesta a  $\alpha$ -radiation (Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013; Antunes *et al.*, 2013).

Los MN son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que espontáneamente o por causa de agentes clastógenos, como las radiaciones, o aneuploidógenos, como la vincristina, entre otros, quedaron fuera del núcleo (Heddle *et al.*, 1978; Schmid, 1975): son conocidos en hematología como cuerpos de Howell-Jolly, su forma es generalmente redonda o almendrada. Su diámetro varía de 1/20 a 1/50 (0.4 a 1.6 micras del tamaño normal de un eritrocito) (Corazza *et al.*, 1990; Schmid, 1975). Su formación se basa en el siguiente principio. En anafase cualquier fragmento cromosómico que no posea centrómero no podrá integrarse a un núcleo por carecer del elemento indispensable para orientarse en el huso acromático. Después de la telofase los cromosomas normales, así como los fragmentos que posean centrómeros, dan origen a los núcleos de las células hijas. Los elementos rezagados (fragmentos o cromosomas completos) quedan incluidos en el citoplasma de las células hijas y una proporción de éstos es transformada en uno o varios núcleos secundarios. Estos son mucho más pequeños que el núcleo principal, de ahí su nombre de MN (Heddle *et al.*, 1983). Eventos similares ocurren si se daña el funcionamiento del aparato mitótico; por ejemplo, bajo la influencia de la colchicina, el núcleo principal es algunas veces remplazado por un grupo de pequeños núcleos, los cuales en general son considerablemente más grandes que el típico MN; esto se debe a que cromosomas completos son los que constituyen a éstos MN (Heddle *et al.*, 1983; Yammamoto y Kikuchi, 1980).

Para la realización de esta prueba es indispensable utilizar un tejido en constante división; sin embargo, debe considerarse que en células con poco citoplasma no son fácilmente distinguibles de los lóbulos o proyecciones del núcleo normal (Heddle *et al.*, 1983; Jaylet *et al.*, 1986). La prueba es útil en diferentes especies y en gran variedad de estructuras en tejidos, de manera que es posible encontrar estas estructuras en eritrocitos policromáticos de

médula ósea (Schmid, 1975), cultivos de linfocitos de sangre periférica (Heddle *et al.*, 1978; Herrera *et al.*, 1992), eritrocitos policromáticos y normocromáticos de sangre periférica (Zuñiga *et al.*, 1998), queratinocitos (Shuilin y Baker, 1989) y células la mucosa bucal (Livingston *et al.*, 1990). También se utilizan los hepatocitos de rata, induciendo la división celular mediante la extirpación de dos terceras partes del hígado o bien con promotores mitogénicos, facilitando con esto la manifestación de MN en los hepatocitos nuevos cuando se exponen a agentes genotóxicos (Schmezer *et al.*, 1990) o carcinógenos (Ashby y Lefebre, 1992) y en células germinales (Lahdetic *et al.*, 1983; Russo y Levis, 1992).

Entre las ventajas de la técnica de MN se incluyen facilidad y rapidez, la posibilidad de probar un solo químico sin otros compuestos, la abundancia de células analizables en diferentes periodos del ciclo celular y el hecho de que los MN formados durante la división celular persisten al menos durante la siguiente interfase (Heddle *et al.*, 1991; Heddle *et al.*, 1983; Schmid, 1975; Hayashi *et al.*, 1990). Entre sus limitaciones está que la prueba no detecta agentes que no producen fracturas o rezagos anafásicos (esto es, aberraciones que no implican la ocurrencia de fragmentos acéntricos como translocaciones e inversiones); tampoco es útil en poblaciones celulares que no se dividen, ni cuando se prueban carcinógenos órgano-específicos o especie-específicos (Heddle *et al.*, 1983; Schmid, 1975). La prueba de MN es mas sensible que la prueba del cometa para la detección de dosis bajas de genotoxicidad, ambas pruebas pueden detectar varios mutagenos (Kawaguchi *et al.*, 2010).

El procedimiento para estudiar MN puede ser relativamente sencillo, similar al descrito para la obtención de cromosomas de médula ósea ya que se obtiene la muestra también pasando el suero fetal o las soluciones salinas (suero fetal de ternero con EDTA a 25mM, tome 2 ml para dos fémures de ratón o 3 ml para uno o dos fémures de rata) por los huesos largos obtenidos (de rata, ratón, pollo o la especie elegida), sólo que en este caso después de la primera centrifugación se preparan los frotis teniendo cuidado de mezclar suavemente la solución obtenida. Si se quiere obtener exclusivamente eritrocitos en los frotis se puede pasar la mezcla por una columna de celulosa (por cada muestra mezcle una parte de celulosa microcristalia tipo 50 SigmaCell y una parte de DAE celulosa (ambos químicos de Sigma, San Luis

Misuri, Estados Unidos). Para esto coloque en el fondo de una jeringa de plástico (de 20 ml) un disco de aproximadamente 20mm de diámetro de papel para limpiar microscopio (tipo 105, Whatman, Ltd. Maidstone, Reino Unido). Adicione a la columna la mezcla de celulosa (1 g para ratón y 1.5 g para rata) y realice el empaquetamiento hasta llegar a 3ml para ratón o 4.5 ml para rata. Antes de cargar la columna con el aspirado, mézclelo en forma minuciosa y adiciónelo completamente con una pipeta, goteando poco a poco hacia el centro de la misma hasta que sea absorbido por completo. Inmediatamente después balancee la columna con solución salina Hanks' HBSS sin rojo de fenol Gibco, Ltd., Paisley, Reino Unido (se elude con aproximadamente 20 ml para ratón o 25 ml para rata durante 20 o 30 minutos). Colecte los eluatos que contendrán a las células eritrocíticas, centrifúgelos por el método estándar para el peleteo de la célula de la médula ósea y prepare los frotis (Romagna, 1988).

En el estudio de MN en eritrocitos periféricos se pueden contar los encontrados en eritrocitos policromáticos, reticulocitos (para el caso de pruebas de 24 a 48 horas) y normocromáticos (en períodos de mayor tiempo o cuando la especie estudiada no presenta de manera normal eritrocitos policromáticos).

Los animales en general presentan gran variación de las frecuencias de MN espontáneos; (Zuñiga *et al.*, 1996a; Zuñiga *et al.*, 2000). Debido a que el control de calidad que ejerce el sistema reticuloendotelial, principalmente el bazo, es menor y, por lo tanto, cuando estos organismos son expuestos a genotóxicos micronucleogénicos los MN se incrementan de manera significativa en sus eritrocitos y lo que los convierte en bioindicadores naturales (Zuñiga *et al.*, 1998).

En el humano el número de MN espontáneos en eritrocitos de sangre periférica es cercano a cero por 10,000 eritrocitos en condiciones normales; sin embargo, cuando por alguna indicación del hematólogo un individuo es esplenectomizado de inmediato se incrementa en éste el número de tales estructuras de manera significativa (ya que el control en la especie lo ejerce casi totalmente este órgano), la cisión expone a genotóxicos como drogas antineoplásicas (Zuñiga *et al.*, 1996b; Torres-Bugarín *et al.*, 1999). Por lo tanto, la esplenectomía puede ser utilizada como una herramienta en especies en las

que el bazo es el responsable de eliminar los MN de la circulación y se pretende probar genotóxicos con ellos (Hayashi *et al.*, 1992).

Es importante tomar en cuenta que debido a los eritrocitos jóvenes (EPC) no pierden los ribosomas por aproximadamente 24 horas después de la enucleación, éstos se tiñen de color azul con el colorante de giemsa (Heddle *et al.*, 1983) o de color rojo con anaranjado de acridina (Hayashi *et al.*, 1990), lo que facilita su identificación cuando se pretende contarlos en pruebas de períodos cortos de exposición.

El estudio de los MN en mucosa bucal también es relativamente simple, esta manera puede tener ventajas sobre la prueba en linfocitos ya que se realiza directamente sin la elaboración de cultivos, estas células reflejan el efecto genotóxico ocurrido en la capa basal en las últimas tres semanas (Livingston, 1990; Tolbert *et al.*, 1991). Sólo se requiere que la persona que se va a estudiar se enjuague con agua la cavidad bucal, posteriormente se realiza un raspado de la parte interna de las mejillas, el material es esparcido sobre un portaobjetos limpio y se deja secar; posteriormente se fija en metanol al 80% durante 48 horas, se tiñe por la técnica de Feulgen, la cual consiste en sumergir las muestras en ácido clorhídrico 1N por minutos a 60°C, nuevamente se sumergen en ácido clorhídrico 1N a temperatura ambiente y otra vez en reactivo de *shiff* durante una hora y media y finalmente son contrastadas con verde rápido. Las observaciones se hacen con el objetivo de inmersión y contraste de fases.

Gracias a la ventaja de utilizar bioensayos para la detección de genotóxicos, diversos grupos de investigadores se han dado a la tarea de buscar organismos que puedan ser utilizados como indicadores de daño genotóxico. Para el caso particular de los MN, estos organismos deberán responder formando MN en número suficiente que al exponerlos al probable agente genotóxico se observe un incremento significativo en el número de MN. Si una especie presenta eritrocitos micronucleados espontáneos en buen número (6 o más en 10,000 eritrocitos) ello se debe a que el sistema reticuloendotelial no tiene un estricto control sobre éstos, por lo tanto, lo esperado es que si a estos organismos se les expone a agentes genotóxicos el número de eritrocitos

micronucleados se incrementará (Zuñiga *et al.*, 1996a; Zuñiga *et al.*, 1998). Esto permitirá detectar genotóxicos micronucleogénicos mediante el estudio comparativo de los eritrocitos micronucleados de la sangre periférica de estas especies.

Se han propuesto animales de laboratorio específicos para los diferentes químicos a probar; los más comunes son la rata (Trozos *et al.*, 1978), el ratón (Hart *et al.*, 1991) y primates (Choy *et al.*, 1993), orden que ha sido poco abordada pero que en un futuro será la más importante para el estudio de genotóxicos. Recientemente se han propuestos otros tipos de organismos vertebrados no mamíferos, como algunos anfibios cuyos eritrocitos son muy grandes y, por lo tanto, facilitan la observación de MN (Jaylet *et al.*, 1986), o algunas veces, con las que se pueden tener también un sistema *in vivo* (Bhunya y Jena, 1992). Los peces no han sido la excepción y han dado buenos resultados cuando han sido expuestos a altas dosis de genotóxicos. Las plantas han sido incorporadas también al estudio de estos compuestos por medio de la formación de MN y se ha usado un limitado número de éstas. En la prueba se utilizan en algunos casos las células formadoras del polen y en otros, los meristemos apicales de raíz o tallos (Grant *et al.*, 1992).

Con el afán de hacer más sensible la prueba de MN, algunos investigadores han utilizado sustancias mitogénicas y/o técnicas quirúrgicas. De esta manera, se ha propuesto utilizar la administración de eritropoyetina, un factor de crecimiento, multiplicación y diferenciación de los eritroblastos que se utiliza para inducir eritropoyesis o, en forma similar, el dicloruro de cobalto, usado para inducir a la eritropoyetina (Suzuki *et al.*, 1989, 1993).

Otras pruebas, un poco menos conocidas pero también utilizadas para la determinación de mutágenos. Como el sistema de ensayo con *E. coli* wP2, muy similar en concepto al de *Salmonella microsomal* (antes visto), si bien este ensayo tiene la ventaja de detectar metales carcinogénicos. Otra prueba es la de recombinación mitótica en la levadura *S. cerevisiae* D3, cepa de la levadura que tiene como ventaja la presencia de enzimas del citocromo P450, lo que permite metabolizar algunos carcinógenos químicos; sin embargo, el resultado de estudios de validación demostró baja sensibilidad y especificidad. El ensayo

de letales recesivas ligadas al sexo en *Drosophila*, es una elegante prueba con la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, con la posibilidad de metabolizar algunos carcinógenos a metabolitos activos; sin embargo, existen algunos químicos, como aminas aromáticas e hidrocarburos policíclicos, que son fácilmente detectados (pero esto se ha hecho posible son algunas modificaciones). La sensibilidad de este ensayo es alto pero no tanto como el de la *Salmonella microsomal*, si bien presenta alta especificidad, con lo que la posibilidad de tener falsos positivos disminuye.

Un gran número de químicos han sido probados con el ensayo de dominantes letales en ratón, cuya mayor ventaja consiste en que el estudio se desarrolla en un sistema *in vivo* de mamíferos. Su principal desventaja es su alto costo y baja sensibilidad como prueba para predecir actividad carcinogénica.

La prueba de Anormalidades del espermatozoide del ratón con baja sensibilidad y especificidad no se recomienda como prueba primaria para tamizar carcinógenos químicos, pero puede ser una prueba confirmatoria (Purchase, 1982).

### **La prueba del cometa**

La electroforesis de célula única, también llamada prueba o ensayo cometa (Monteith y Vanstone, 1995) es una técnica rápida, simple y sensible para medir y analizar rompimientos de ADN en células de animales o plantas (Mckelvey-Martin *et al.*, 1993); esta prueba fue concebida en 1984 y modificada en 1988 induciendo condiciones alcalinas, lo que hizo los rompimientos de hebras solas de ADN más obvias (Singh, *et al.*, 1988; Mckelvey-Martin *et al.*, 1993). El principio en el que se basaron para la realización de esta modificación fue el de que a pH neutro la continuidad de la larga molécula dúplex no es afectada por un ocasional rompimiento de cadena sencilla; sin embargo, los apareamientos de bases en el ADN son rotos por el álcali, y con esto las discontinuidades (Singh *et al.*, 1988). Es una prueba de gran utilidad ya que solo necesita de un pequeño número de células (de 1 a 10,000) y el resultado puede ser observado

el mismo día (Mckelvey-Martin *et al.*, 1993). Su nombre lo toma de la imagen que se observa como resultado de exponer células a los compuestos genotóxicos, esto es, que si la célula está dañada al momento de hacer su corrimiento electroforético, el ADN de ésta dejará una estela o cauda, que es el resultado de la fragmentación del ADN en diferentes tamaños; en esta prueba la información la proporciona el tamaño de desplazamiento o distancia de migración de dichos fragmentos, es utilizada para evaluar todo tipo de organismos como ratas, pulga de agua y linfocitos humanos etc (Mckelvey-Martin *et al.*, 1997; Berhane *et al.*, 2014; Gómez-Oliván *et al.*, 2014; Yamamoto *et al.*, 2014 ).

Los inconvenientes de esta técnica es que por lo menos se requiere de un microscopio equipado con epifluorescencia y equipo de fotografía (Singh *et al.*, 1988), más caro que el microscopio común, además el tipo de colorantes para la tinción son peligrosos si no se manejan con cuidado; y no detecta agentes que no tienen su efecto directamente sobre el ADN, como es el caso de los agentes aneuploidogénicos, que dañan el uso mitótico (Sasaki *et al.*, 1997).

El ensayo del cometa es una prueba que ha sido utilizada en toxicología genética, investigaciones medioambientales, particularmente haciendo biomonitoreos de poblaciones expuestas a daño oxidativo, radiación ionizante y UV y otros compuestos. A pesar de la menor potencia del ensayo cometa para detectar un bajo nivel de potencial genotóxico, una de las ventajas más importantes del ensayo de cometa es que el daño del ADN se puede medir en cualquier tipo de célula (Kawaguchi *et al.*, 2010). Lo más común es trabajar con linfocitos de sangre periférica (Ré *et al.*, 1997) pero se sabe que se puede igualmente trabajar con células de la mucosa nasal (Mckelvey-Martin *et al.*, 1993), pulmón, bazo, riñón, médula ósea (Sasaki *et al.*, 1997), núcleos de células de la raíz de plantas (Koppen y Verschaeve, 1996) e incluso con eritrocitos de algunos anfibios (Ralph y Petras, 1998). La prueba cometa nos permite también identificar subpoblaciones resistentes o sensibles a agentes que en forma general dañan el ADN (Mckelvey-Martin *et al.*, 1993).

Independientemente del equipo requerido, la prueba es sencilla, las células de los tejidos expuestos al agente que se va a probar son mezclados con agarosa



y depositadas en un portaobjetos, la suspensión es cubierta con otra capa de agarosa, la laminilla es sumergida en una solución de lisis, posteriormente la laminilla se coloca en una unidad de electroforesis horizontal para hacer el corrimiento correspondiente, la muestra puede ser teñida con bromuro de etidio o naranja acridina y la observación se realiza con un microscopio con epifluorescencia (Singh *et al.*, 1988).

## **Apoptosis**

Apoptosis (del griego arcaico *apoteo-sis*, que refiere a la caída natural de las hojas en otoño) es un término mecanístico de la muerte celular programada; agrupa características morfológicas y bioquímicas particulares que permiten distinguirla de la muerte necrótica. Entre los diferentes tipos de muerte celular se encuentra la apoptosis, que puede ser programada, como es el caso de los procesos que se realizan en la diferenciación embrionaria, la metamorfosis de algunos organismos o el envejecimiento; o inducida, la cual se observa después de la administración de algunas drogas antineoplásicas o estímulos físicos como la temperatura y es la que nos interesa como prueba de daño genético.

Es conocido que la exposición de los organismos a radicales libres induce apoptosis en células de varios tejidos (Lennon *et al.*, 1991; Albina *et al.*, 1993). Evidencias de que la apoptosis es inducida por estrés oxidativo se observan en estudios con agentes apoptóticos, que inducen radicales libres y pueden inhibirse por la adición de antioxidantes como la superóxido dismutasa o la catalasa, entre otros (Buttke y Sandstrom, 1994). Otros compuestos, como la espermina (Brune *et al.*, 1991), el zinc (Bray y Bettger, 1990), la L-acetil carnitina (Galli y Frateli, 1993) y la vitamina E (Umegagi e Ichikawa, 1994) presentan actividades tanto antioxidantes como antiapoptóticas.

La prueba se basa en la digestión del núcleo por una nucleasa endógena, que rompe la cromatina entre los nucleosomas individuales. Si el ADN de células apoptóticas es fraccionado por su tamaño en un corrimiento electroforético, las bandas individuales (algunas veces referidas como ADN escalera) son resueltas; éstas difieren en tamaño en aproximadamente 180 pares de bases, lo que corresponde al tamaño internucleosomal repetido. En algunos casos de

aparente apoptosis, la cromatina no siempre es degradada en fragmentos del tamaño del nucleosoma, lo que sugiere que esto no es un componente esencial del proceso (Schwartz y Osborne, 1993).

El estudio de compuestos genotóxicos, por lo tanto, se lleva a cabo mediante la observación del patrón en escalera del ADN característico de la apoptosis por un corrimiento electroforético en geles de agarosa y/o mediante la observación directa de las células expuesta por un microscopio con epifluorescencia. La inducción de apoptosis nos indicará que el compuesto probado indujo indirectamente “daño” al ADN y por ende será un genotóxico “apoptoticogénico”.

Para la observación del patrón en escalera se requieren detergentes, uno para la lisis celular (bromuro de dodecil trimetil amonio o DTAB) y otro que se une al ADN para precipitarlo (bromuro de hexadecil trimetil amonio o CTAB).

Las células por estudiar se suspenden en 200 ml de medio de cultivo RPMI 1640 no suplementado y se colocan en tubos Eppendorf estériles de 1.5 ml (libres de ADNAsas). A cada tubo se le agregan 600  $\mu$ l de *buffer* de lisis (DTAB) y se incuban a 65°C durante 15 minutos. Se adicionan 400  $\mu$ l de cloroformo se agitan vigorosamente de inmediato durante 5 minutos (sin vórtex). Posteriormente la muestra se centrifuga 10 minutos a 13,000 rpm, el sobrenadante se recupera y se pasa a otro tubo Eppendorf estéril y se le adiciona 100  $\mu$ l de ARNasa (10 mg/ml), se mezcla suavemente por inversión y se incuba a 65°C por 15 minutos. Al término de la incubación se agrega a cada tubo 100  $\mu$ l de CTAB mezclándolo por inversión y se afora a 1.5 ml con agua inyectable. Los tubos se centrifugan a 10,000 rpm por 10 minutos. El botón se decanta y se resuspende en 300  $\mu$ l de NaCl 1.2 mM más 600  $\mu$ l de etanol al 100%. El botón de ADN se lava tres veces con etanol al 70% mediante centrifugaciones de 10 minutos a 10,000 rpm. Finalmente, se retira el excedente de alcohol y se deja secar para resuspenderlo con 20-40  $\mu$ l de *buffer* trisma base-EDTA. La muestra se puede congelar o correrla de inmediato con una cámara horizontal a 80 voltios, agregando un patrón en escalera comercial de 180-300 pares de bases para su comparación y comprobación (Domínguez, 1997).

## La prueba de Ames

Mutaciones por corrimiento en la lectura de bases en el gen *hisD* de *Salmonella typhimurium*, fue utilizada por Bruce Ames para desarrollar un ensayo para identificar mutágenos y carcinógenos potenciales que provocan corrimientos de este tipo. Este ensayo es más económico y rápido que los que utilizan mamíferos (Ayala y Kliger, 1984). Los compuestos se seleccionan por su capacidad para provocar la reversión de una serie de mutaciones por corrimiento de las pautas de lectura conocidas del gen *hisD* al tipo salvaje, que se comprueba rápidamente porque las células mutadas al tipo salvaje forman colonias en un medio que carece de histidina (Ayala y Kliger, 1984). Esta prueba permite determinar si una sustancia química es o no mutagénica, presenta gran sensibilidad y da resultados que se pueden tomar como base para estudios posteriores.

Un grupo de investigadores colectaron y caracterizaron un gran número de cepas de *Salmonella typhimurium* con diferentes mutaciones en el operón de histidina (Maron y Ames, 1983; Kier *et al.*, 1986; Venitt *et al.*, 1986), cientos de estas cepas fueron utilizadas por su habilidad para detectar diferentes agentes mutagénicos. Algunas de estas cepas fueron modificadas por Ames para hacerlas más eficientes. Estas cepas presentan mutaciones en un gen de reparación de ADN y en otro que tiene que ver con mayor permeabilidad en la pared celular, la cual aumenta la sensibilidad a ciertas sustancias químicas (Maron y Ames, 1983; Kier *et al.*, 1986).

Resulta importante tomar en cuenta este tipo de ensayos ya que los sistemas de ensayo bacteriano proporcionan un eficiente medio para detectar agentes mutagénicos y carcinógenos que podrían interactuar con el ADN y causar mutaciones, y también serán capaces de causar mutaciones en otras especies, incluyendo al hombre (Plewa y Gentile, 1985).

La principal limitación de cualquier sistema bacteriano para detectar carcinógenos como mutágenos es que las bacterias no poseen el metabolismo de los mamíferos para la activación de carcinógenos ya que la forma activa de muchos de estos es formada en el metabolismo de los mamíferos (Ames *et al.*, 1985). Sin embargo estudios muestran que ciertos carcinógenos pueden ser

detectados como mutágenos con gran sensibilidad por incubación de las bacterias en presencia de carcinógenos y homogenado de hígado (Ames *et al.*, 1985). Los primeros ensayos que Ames utilizó para probar mutágenos consistían en agregar el compuesto por estudiar directamente a una cepa de bacterias que no pueden crecer por causa de una mutación ( $his^-$ ) (Ames *et al.*, 1975) sobre una placa de agar mínimo-glucosa, utilizando microorganismos que tuvieran más sensibilidad para detectar diferentes clases de mutágenos. Si el mutágeno puede causar la mutación particular que provoque una reversión en el genoma bacteriano, eso le dará capacidad a dicha bacteria de crecer y formar una colonia. Así, un círculo de colonias ( $his^+$ ) aparecerá alrededor del punto de aplicación del mutágeno después de día y medio de incubación (Ames, 1985).

En 1973, Ames y sus colaboradores publicaron un protocolo en el que incluían un homogenado de hígado que se centrifuga utilizando sólo el sobrenadante al que se le conoce como fracción S-9; para este propósito se utiliza normalmente hígados de rata. Primero se activan las enzimas del hígado inyectando a las ratas aroclor, un bifenilo policlorinado. Se sacrifican las ratas y se homogenizan los hígados, se centrifugan para eliminar los restos celulares. El sobrenadante o mezcla S9 contiene enzimas solubilizadas (Griffiths *et al.*, 1993). Esta mezcla se utiliza como fuente acción metabólica para la detección de una gran variedad de carcinógenos que requieren este tipo de activación (Maron y Ames, 1983), activando así a un promutágeno para que se convierta en mutágeno (Plewa y Gentile, 1982).

Una de las modificaciones de la metodología fue el llamado ensayo de incorporación en placa, que consiste en colocar la fracción S-9, la bacteria y la sustancia por probar a diferentes concentraciones en un tubo con agar blando al que se le han añadido trazas de histidina, se mezclan y son puestas en la superficie de la placa de agar mínimo conteniendo glucosa (agar base). Las placas son incubadas a 37°C de dos a tres días. En las primeras horas toda la población de bacterias auxótrofas crece en presencia del compuesto a prueba y de la mezcla S-9 metabólicamente activa hasta que toda la histidina es consumida; después de esta fase de crecimiento auxotrófico, solamente aquellas células que mantuvieron sus mutaciones de reversión a la mutación

existente para histidina continuaron el crecimiento para formar colonias visibles de protótrofos ( $his^+$ ) (Maron y Ames, 1983; Kier, 1986; Venitt *et al.*, 1986). En el caso de que se observe en una o dos de las concentraciones de las sustancias un doble o un triple de colonias revertantes (las cuales crecen sobre las capas de colonias auxótrofas y sobresalen por su tamaño), a diferencia del control, indica una respuesta mutagénica (Kier *et al.*, 1986). Ahora bien, en caso de una respuesta positiva o sospechosa (si no el doble o triple de colonias revertantes, que sea un número elevado al rango de revertantes espontáneas de cada cepa) se debe comprobar una relación dosis-respuesta con un rango de concentraciones más estrecho (Maron y Ames, 1983). Si no existiera la cepa colonias auxótrofas, esto indicaría un nivel tóxico de la sustancia para la bacteria.

En general existen muchas variaciones de esta prueba (Maron y Ames, 1983), así como cepas de bacteria, y tanto la prueba como las cepas han ido evolucionando a lo largo del tiempo. Es importante mencionar que algunos mutágenos afectan solamente a cepas que detectan corrimiento de estructura o bien cambio de bases; sin embargo, muchos mutágenos pueden afectar ambos tipos de cepas (Ames, 1983; Kier *et al.*, 1986; Venitt *et al.*, 1986).

Además de la mutación de histidina, las cepas contienen otras mutaciones que aumentan su capacidad de detectar mutágenos. La mutación *rfa* afecta la permeabilidad de la pared lipopolisácarida que recubre la superficie de la bacteria incrementando la permeabilidad a moléculas de alto peso molecular que no penetran en una pared celular normal (Maron y Ames, 1983; Kier *et al.*, 1986).

Otra modificación del ensayo de Salmonella/microsomal es la introducción del plásmido pkm101 (factor R), el cual incrementa la mutagenicidad química y espontánea apoyando un sistema de reparación del ADN propenso al error, normalmente presente en estos organismos. Tiene además un gen de resistencia a ampicilina que sirve como marcador.

La técnica se realiza de la siguiente manera: a 100 ml de agar blando fundido se le añaden 10 ml de solución histidina/biotina. Se distribuyen en raciones de 2 ml en tubos mantenidos en baño María a 45°C. Se añaden 0.1 ml del cultivo

de la cepa de prueba y 0.1 ml de la sustancia que se va a probar en diferentes diluciones. Finalmente se agregan 0.5 ml de una mezcla de extracto de hígado de rata, sales minerales, glucosa-6-fosfato, NADP y amortiguador de fosfato. Esta mezcla hace las veces del metabolismo de un mamífero (el compuesto por probar se procesa con y sin mezcla).

Los controles serán preparados en forma idéntica, suprimiendo el compuesto que se va a probar. Las mezclas de los cultivos son colocadas en cajas de Petri previamente preparadas con agar mínimo-glucosa (agar, sales minerales y agua), se distribuyen de manera uniforme, se cubren y se dejan gelificar. Posteriormente se incuban en la oscuridad a 37°C durante 48 horas y al final de éstas se cuentan las colonias revertantes en todas las cajas. Las colonias revertantes sobresalen por su tamaño, en contraste con las colonias base (his<sup>-</sup>), que presentan un crecimiento residual debido a las trazas de histidina contenidas en el agar blando.

La prueba de Ames es y ha sido empleada en gran cantidad de trabajos y en el estudio de numerosas sustancias (Purchase, 1982; Maron y Ames, 1983), se ha utilizado también para determinar la mutagenicidad de compuestos ambientales y mezclas biológicas. Es un hecho que muchos laboratorios de todo el mundo comprueban ahora de manera rutinaria la mutagenicidad y carcinogenicidad de muchos compuestos potencialmente peligrosos (Griffiths *et al.*, 1993).

### **Bibliografía**

Albina J.E. *et al.* (1993). Nitric oxide-mediated apoptosis in murine peritoneal macrophages. *J. Immunol.* 150: 5080-5085.

Ames B.N. (1985). The detection of chemical mutagens with enteric bacteria. En *Microbial test for mutagenicity/carcinogenicity*. En K.A. Traul (ed.), Van Nostrand Reinhold Company, Nueva York, 12:113-128.

Ames B.N. *et al.* (1985). Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacterial for detection. En *Microbial test for mutagenicity/carcinogenicity*. En K.A. Traul (ed.), Van Nostrand Reinhold Company, Nueva York, 69-73.

Ames B.N., McCaun J., Yamasaki E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella / mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat Res.* 31: 347-364.

Antunes A. C., Martins V. Cardoso J. Santos L., Monteiro Gil, O. (2013). The cytokinesis-blocked micronucleus assay: Dose estimation and inter-individual differences in the response to  $\gamma$ -radiation. *Mutat Res.*

- Ashby J., Lefebre P.A. (1992). Mitogenesis, micronuclei and carcinogenesis in the rat liver: Some basic inconsistencies. *Environ Mol Mutagen.* 20:29-38.
- Ayala F.J., Kliger J.A. (1984). *Genética moderna*. Fondo Educativo Interamericano, Ediciones Omega, Barcelona, pp.550-551.
- Baker R.J. (1988). Methods in chiropteran mitotic chromosomal studies. En *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. En Thomas H. Kunz (ed.), Smithsonian Institution Press, Washington, Londres, pp. 425-429.
- Berhane H., Epperly MW., Goff J., Kalash R., Cao S., Franicola D., Zhang X., Shields D., Houghton F., Wang H., Wipf P., Parmar K., Greenberger JS. (2014). Radiologic Differences between Bone Marrow Stromal and Hematopoietic Progenitor Cell Lines from Fanconi Anemia (Fancd2<sup>-/-</sup>) Mice.
- Bhuya S.P., Jena G.B. (1992). Genotoxic potential of the organochlorine insecticide lindane (gamma-BHC): An *in vivo* study in chickens. *Mutat Res.* 272: 175-181.
- Biederman B.M., Lin C.C. (1982). A leukocyte culture and chromosome Bloom S.E *et al.* (1987). Targeting of chemical mutagens to differentiating, B-lymphocytes *in vivo*: Detection by direct DNA labelling and sister chromatid exchange induction. *Environ Mutagen.* 9: 3-18.
- Bloom S.E. *et al.* (1987). Targeting of chemical mutagens to differentiating, B-Lymphocytes *in vivo*: Detection by direct DNA labeling and sister chromatid exchange induction. *Environ Mutagen.* 9: 3-18.
- Bray T.M., Bettger W.J. (1990). The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Rad Biol Med.* 8: 281-291.
- Brune B. *et al.* (1991). Spermine prevents endonuclease activation and apoptosis in thymocytes. *Exp Cell Res.* 195: 323-329.
- Buttke T.M., Sandstrom P.A. (1994). Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol Today* 15: 7-11.
- Choy W.N. *et al.* (1993). Incorporation of a micronucleus study into a developmental toxicology and pharmacokinetic study of L-Selenomethionine in non human primates. *Environ Mol Mutagen.* 21:73-80.
- Christidis L. (1985). A rapid procedure for obtaining chromosome preparations from birds. *Auk.* 102: 892-893.
- Corazza G.R. *et al.* (1990). Howell-Jolly body counting has a measure of splenic function a reassessment. *Clin Lab Hematol.* 12: 269-275.
- Delhanty J.D.A. (1989). Rapid chromosomal sexing of birds by direct and short term culture techniques. *Veterinary Record* 125: 92.
- Domínguez-Rodríguez J.R. (1977). *Inducción in vivo de apoptosis por adriamicina en macrófagos peritoneales murinos y su inhibición mediante el uso de moléculas antioxidantes*. Tesis de grado, Universidad de Guadalajara, CUCS, pp. 3-8.
- Duellman W.E., Trueb L. (1994). *Biology of amphibians*. Johns Hopkins Paperback, Baltimore, Londres, pp. 445-459.
- Dyer A.F. (1993). *Investigating chromosomes*. Edward Arnold, Gran Bretaña, pp. 1-15.
- Galli G., Fratelli M. (1993). Activation of apoptosis by serum deprivation in a teratocarcinoma cell line: Inhibition by L-Acetylcarnitine. *Exp. Cell Res.* 204: 54-60.

- Grant W.F. *et al.* (1992). The use of *Tradescantia* and *Vicia faba* bioassays for the *in situ* detection of mutagens in an aquatic environment. *Mutat Res.* 270: 53-64.
- Griffiths A.J.F., Miller J.H., Suzuki D.T., Lewontin R.C., Gelbart, W.L. (1993). *Genética*. Quinta edición. Interamericana, McGraw-Hill, España, pp. 569-570.
- Gómez-Oliván LM., Galar-Martínez M., García-Medina S., Valdés-Alanís A., Islas-Flores H., Neri-Cruz N. (2014). Genotoxic response and oxidative stress induced by diclofenac, ibuprofen and naproxen in *Daphnia magna*.
- Haaf T., Schmid M. (1984). An early stage of ZW/ZZ sex chromosome differentiation in *Poecilia sphenops* var. *melanistica* (*Poeciliidae*, *Cyprinodontiformes*). *Chromosoma Berl.* 89: 37-41.
- Han H. *et al.* (1995). Induction of a DNA adduct detectable by <sup>32</sup>P-postlabeling in the dorsolateral prostate of NBL/ Cr rats treated with estradiol-17Bb and testosterone. *Carcinogenesis* 16: 951-954.
- Hart J. W. *et al.* (1983). Induction of micronuclei in the mouse: revised timing of the final stage of erythropoiesis. *Mutat Res.* 120: 127-132.
- Hayashi M. *et al.* (1990). The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutat Res.* 1990; 245-249.
- Hayashi M. *et al.* (1989). An application of acridine orange fluorescent staining to the micronucleus test. *Mutat Res.* 120: 241-247.
- Hayashi M. *et al.* (1992). The micronucleus assay using peripheral blood reticulocytes from mitomycin C- and cyclophosphamide-treated rats. *Mutat Res.* 278: 209-213.
- Heddle J.A., Hite M., Kirkhart B., Mavournon K., MacGregor J.T., Newell G.W., Salamone M.F. (1983). The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-tox Program. *Mutat Res.* 123: 61-118.
- Heddle J.A. *et al.* (1991). Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present and future. *Environ Mol Mutagen.* 18: 277-291.
- Heddle J.A., Lue C., Saunders E., Daniel R. (1978). Sensitivity to five mutagens in Fanconi's anemia as measured by the micronucleus method. *Cancer Res.* 38: 2983-2988.
- Herrera A. *et al.* (1992). Effect of permethrin on the induction of sister chromatid exchanges and micronuclei in cultured human lymphocytes. *Environ Mol Mutagen.* 20: 218-228.
- Jaylet A. *et al.* (1986). A new micronucleus test using peripheral blood erythrocytes of the newt *Pleurodeles waltl* to detect mutagens in fresh-water pollution. *Mutat Res.* 164: 245-257.
- Jena G.B., Bhunya S.P. (1995). Use of chick, *Gallus domesticus*, as an *in vivo* model for the study of chromosome aberration: A study with mitomycin C and probable location of a "hot spot". *Mutat Res.* 334: 167-174.
- Kareli D., Pouliliou S., Nikas I., Psillaki A., Kareli A., Nikolettos N., Galazios G., Liberis V., Lialiaris T. (2014). Effect of maternal smoking during pregnancy on fetus: a cytogenetic perspective. *27(2):127-31.*
- Kier L.D., Brusick D.L., Auleta A.E., Von Halle E.S., Brown M.M., Simmon V.F., Dunkel V., Mortelmans K., Rao T.K., McCann J., Prival M., Ray V. (1998). The *Salmonella typhimurium*/mammalian-microsomal assay. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat Res.* 168: 69-240.
- Kligerman A.D. *et al.* (1975). Umbra limi: a model for the study of chromosome aberrations in fishes. *Mutat Res.* 31: 225-233.
- Kligerman A.D. *et al.* (1987). Sister chromatid exchange analysis in lung and peripheral blood lymphocytes of mice exposed to methyl isocyanate by inhalation, *Environ Mutagen.* 9: 29-36.



- Koopen G., Verschaeve L. (1996). The alkaline comet test on plant cells: A new genotoxicity test for DNA strand breaks in *Vicia faba* root cells. *Mutat Res.* 360: 193-200.
- Lahdetic J. (1983). Micronucleus induced during meiosis by ethyl methanesulfonate, cyclophosphamide and dimethylbenzanthracene in male rats. *Mutat Res.* 120: 257-260.
- Lake Y. *et al.* (1979). Report of the workshop on the utility of sister chromatid exchange. *Mutat Res.* 64: 53-56.
- Lee J.J. *et al.* (1990). Cytogenetic method for the mouse: Preparation of chromosomes, karyotyping, and *in situ* hybridization. *Anal Biochem.* 189: 1-17.
- Lennon S.V. *et al.* (1991). Free radical as apoptosis inductor. *Cell Prolif.* 24: 204-214.
- Livingston G.K. *et al.* (1990). Induction of nuclear aberrations by smokeless tobacco in epithelial cells of human oral mucosa. *Environ Mol Mutagen.* 15: 136-144.
- Luck E. (1977). *Conservación química de los alimentos*. Acriba, Zaragoza, España.
- Maron D.M., Ames B.N. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res.* 113: 173-215.
- Martos-Moreno GÁ., Campos C., Flores R., Yturriaga R., Pérez-Jurado LA., Argente J. (2013). Blood cell chimerism in dizygotic twins conceived by in vitro fertilization. *79(4):248-52.*
- McFree A.F. *et al.* (1993). Improved sister-chromatid differentiation using paraffin-coated bromodeoxyuridine tablets in mice. *Mutat Res.* 119: 83-88.
- McKelvey-Martin V.J. *et al.* (1993). The single cell gel electrophoresis assay (cometa assay): A European review. *Mutat Res.* 288: 47-63.
- Monteith D.K., Vanstone J. Comparison of the microgel electrophoresis assay and other assay for genotoxicity in the detection of DNA damage. *Mutat Res.* 345: 97-103.
- Park E.H., Kang Y.S. (1979). Karyological confirmation of conspicuous ZW sex chromosomes in two species of Pacific anguillid fishes (Anguilliformes: Teleostomi) Cytogenet. *Cell Genet.* 23: 33-38.
- Plewa M.J., Gentile J.M. (1985). The activation of chemicals into mutagens by green plants. En Hollander A., *Serres chemical mutagens. Principles and methods for their detection*. Plenum Press, Nueva York, vol. VII: 401-420.
- Purchase I.F.H. (1982). An appraisal of predictive test for carcinogenicity. *Mutat Res.* 99: 53-71.
- Quillardet P., Hofnung M. (1985). The SOS Chromotest. A colorimetric bacterial assay for genotoxins procedures. *Mutat Res.* 147: 65-78.
- Ralph S., Petras M. (1998). Comparison of sensitivity to methyl methanesulphonate among tadpole developmental stages using the alkaline single-cell gel electrophoresis (cometa) assay. *Environ Mol Mutagen.* 31: 374-382.
- Ré J.L. *et al.* (1997). Evaluation of the genotoxic activity of metronidazole in human lymphocytes by the cometa assay. *Mutat Res.* 375: 147-155.
- Rieger R. *et al.* (1992) Low temperature between conditioning and challenge treatment prevents the "adaptive response" of *Vicia faba* root tip meristem cells. *Mutat Res.* 282: 69-72.
- Rodríguez-Ariza A. *et al.* (1992). Metal mutagenicity and biochemical studies in bivalve molluscs from Spanish coasts. *Environ Mol Mutagen.* 19: 112-124.
- Rojas E. *et al.* (1993). Mitotic index and cell proliferation kinetins for identification of antineoplastic activity. *Anti-Cancer Drugs* 4: 637-640.

- Romagna F. (1998). Series: Current issue in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res.* 206: 307-309.
- Russo A., Levis A.G. (1992). Further evidence for the aneuploidogenic properties of chelating agents: induction of micronuclei in mouse male germ cells by EDTA. *Environ Mol Mutagen.* 19: 125-131.
- Salamanca Y.F. *et al.* (1990). *Citogenética humana*. Médica Panamericana, México, 58-60.
- Sasaki Y.F. *et al.* (1997). Simple detection of chemical mutagens by the alkaline single-cell gel electrophoresis (cometa) assay in multiple mouse organs (liver, lung, spleen, kidney, and bone marrow). *Mutat Res.* 39: 215-231.
- Kawaguchi S. *et al.* (2010) *Is the Comet Assay a Sensitive Procedure for Detecting Genotoxicity?*
- Schwartz L.M., Osborne B.A. (1993). Programmed cell death, apoptosis and killer genes. *Immunology Today.* 14: 243-250.
- Schmezer P. *et al.* (1990). Assay-specific genotoxicity of n-nitrosodibenzylamine to the rat liver *in vivo*. *Environ Mol Mutagen.* 15: 190-197.
- Schmid W. (1975). The micronucleus test. *Mutat Res.* 31: 9-15.
- Seraj M.J. *et al.* (1996). DNA adduct formation by hormonal steroids *in vitro*. *Mutat Res.* 370: 49-49.
- Shuilin H., Baker R.S.U. (1989). Initiating carcinogen, triethylenemelamine, induces micronuclei in skin target cells. *Environ Mol Mutagen.* 14: 1-5.
- Singh N.P. *et al.* (1998). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Res.* 175: 184-191.
- Suzuki Y *et al.* (1989). Effect of erythropoietin on the micronucleus test. *Environ Mol Mutagen.* 13: 314-318.
- Suzuki Y. *et al.* (1993). Micronucleus test and erythropoiesis: effect of cobalt on the induction of micronuclei by mutagens. *Environ Mol Mutagen.* 22: 101-106.
- Takagi N. *et al.* (1972). Chromosome studies in four species of *Ratitae* (aves) *Chromosoma Berl.* 36:281-291.
- Tolbert P.E. *et al.* (1991). Micronuclei and other nuclear abnormalities in buccal smears: A field-test in snuff users. *Am J of Epidemiol.* 132: 840-850.
- Torres-Bugarín O. *et al.* (1999). Eritrocitos micronucleados en niños esplenectomizados con y sin quimioterapia. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 56: 212-217.
- Torres-Bugarín O. and Ramos-Ibarra M. L. (2013). Utility Micronucleus Test and Nuclear Abnormalities in Exfoliated Cells of Oral Mucosa in the Evaluation of Genotoxic and Cytotoxic Damage. *Int. J. Morphol.* 31:650-657.
- Trozos R.J. *et al.* (1978). The evaluation of sixteen carcinogens in the rat using the micronucleus test. *Mutat Res.* 58: 79-86.
- Umegagi K., Ichikawa T. (1994). Decrease in vitamin E levels in the bone marrow of mice receiving whole-body x-ray irradiation. *Free Radical Biol & Med.* 17: 439-444.
- Vennit S. *et al.* (1986). Short-term assay using bacteria. En Montesano R. *et al.* (eds.). *Long-term and short-term assay for carcinogens. A critical appraisal*. IARC Scientific Publications, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 83: 143-161.

Yamanaka L. *et al.* (1979). Report of the workshop on the utility of sister-chromatid exchange. *Mutat Res.* 64: 53-56.

Yamamoto K.I., Kikuchi Y. (1980). A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons. *Mutate Res.* 71: 127-131.

Yamamoto A., Nakashima K., Kawamorita S., Sugiyama A., Miura M., Kamitai Y., Kato Y. (2014). Protective effects of raw and cooked blackcurrant extract on DNA damage induced by hydrogen peroxide in human lymphoblastoid cells.

Zamora Pérez A., Gallegos Arreola M.P., Sánchez Corona J. (1998). Induction of micronuclei in the domestic cat (*Felis domesticus*) peripheral blood by colchicines and cytosine-arabioside. *Mutat Res.* 413: 187-189.

Zuñiga G., *et al.* (1996a). Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 35 mammalian species. *Mutat Res.* 369: 123-127.

Zuñiga G., Ramirez Muñoz M.P., Torres Bugarín O., Pérez Jiménez J., Ramos Mora A., Zamora Pérez A., Gallegos Arreola M.P., Sánchez Corona J. (1988). Induction of micronuclei in the domestic cat (*Felis domesticus*) peripheral blood by colchicine and cytosine-arabioside. *Mutat Res.* 413: 187-189.

Zuñiga G. *et al.* (2000). Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): Part two. *Mutat Res.* 467: 99-103.

## **LEGISLACIÓN SOBRE EL MANEJO DE SUSTANCIAS PELIGROSAS**

### **Introducción**

La sociedad industrial, además de grandes logros, ha traído también graves problemas, entre los cuales, el de la contaminación ambiental no es ciertamente el menor. El proceso de industrialización trajo como consecuencia el crecimiento de los centros de población y de las industrias, con la consecuente generación de residuos, productos del consumo humano y de los desechos industriales, con distinto grado de peligrosidad. La atmósfera, a su vez, se contamina con la emisión de olores, gases, partículas sólidas, líquidas provenientes de las diversas fuentes fijas y móviles. De esta manera, las formas de vida de la sociedad y el medio ambiente se transforman no ciertamente para bien del hombre y demás manifestaciones de la vida animal y vegetal.

La sociedad industrial se caracteriza porque la mayor parte de la producción se efectúa a través de las máquinas y no del trabajo manual del hombre. Este desarrollo desmesurado del maquinismo está dislocando la vida humana en todos los aspectos de su realidad: familia, trabajo, cultura y relación social. Todo está sujeto a la actividad de la máquina, productora de los satisfactores humanos. Esta dinámica del maquinismo conduce a la necesidad de un desarrollo de la producción indefinido e incomparable. Un freno a la producción implicaría pérdidas billonarias y desequilibraría las economías de vastas regiones del planeta. De aquí que el industrialismo y consumismo sean términos unidos entre sí. La sociedad industrial es, por lo tanto, una sociedad de consumo, con una cultura fáustica, de dominio de la naturaleza y de un aprovechamiento desenfrenado de sus recursos. El hombre posee actualmente una tecnología capaz de destruir en tres generaciones los recursos que la naturaleza tardó millones de años en formar.

El hombre ha entendido, así lo demuestran los convenios internacionales, en donde se han venido estableciendo principios y normas para el aprovechamiento sustentable de los recursos naturales y la preservación de un ambiente sano. En la Conferencia de Estocolmo se consagró como un principio fundamental que “Los recursos naturales de la tierra incluidos el aire, el agua, la tierra, la flora, y la fauna y especialmente las muestras representativas de los ecosistemas naturales, deben preservarse en beneficio de las generaciones presentes y futuras, mediante una cuidadosa planificación u ordenación, según convenga”. La preservación de los ecosistemas y del medio ambiente se ve amenazada por diversos factores, entre los que se encuentran sustancias peligrosas utilizadas en procesos industriales o agropecuarios o de residuos resultantes de ellos. En la Conferencia sobre Medio Ambiente y Desarrollo, celebrada en Río de Janeiro, en junio de 1992, se afirma: 19.2 En los últimos tiempos se ha seguido produciendo una enorme contaminación química en algunas de las zonas industriales más importante del mundo, que entraña graves daños para la salud, las estructuras genéticas y las reproducciones humanas y para el medio ambiente...” Y más adelante agrega 19.49. Los gobiernos al nivel que corresponda y con el apoyo de las organizaciones internacionales y regionales competentes, deberían: a) Adoptar políticas y medidas reglamentarias y de otro tipo para determinar los productos químicos tóxicos y reducir al mínimo la exposición de estos, sustituyéndolos por otras sustancias menos tóxicas y, en último término, eliminar gradualmente las sustancias que presentan riesgos excesivos e intratables por cualquier otra razón para la salud humana y el medio ambiente y aquellos que sean tóxicos, persistentes y bioacumulativos, cuyo uso no pueda controlarse adecuadamente; b) Reducir la excesiva dependencia del uso de productos químicos en la agricultura utilizando otras prácticas de labranza, de lucha integrada contra las plagas u otros medios apropiados.

Es en esta tesitura que se van elaborando las normas jurídicas, en el derecho mexicano, relativas al manejo, almacenamiento, transporte y confinamiento de materias y residuos peligrosos. Presentaremos de manera sucinta las leyes y reglamentos sobre la materia.

## **El marco legal**

*Leyes y reglamentos.* En el régimen jurídico de nuestro país, existe una jerarquía de normas en cuya cúspide se encuentra la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos y, en orden descendente, las leyes reglamentarias y normas oficiales mexicanas. Las normas de rango inferior no pueden estar en oposición a las jerarquía superior; por lo que las normas constitucionales constituyen el necesario fundamento de la legislación ordinaria. A esto conviene agregar, dado el sistema federal que nos rige, la existencia de una legislación federal y otra local, ésta no puede estar en contradicción con la primera cuando ambas son concurrentes en la materia, como es el caso de la legislación ambiental. Por otra parte, la Constitución consagra tres órdenes de gobierno: el federal, el estatal y el municipal, con facultades para legislar en sus esferas de competencia territorial y también concurrentes en la esfera ambiental, mas no en lo que se relaciona con las actividades altamente riesgosas. En efecto, el artículo 5, fracción VI, de la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA) dispone: “La regulación y el control de las actividades consideradas como altamente peligrosas, y de la generación, manejo y disposición final de materiales y residuos peligrosos para el ambiente o los ecosistemas, así como para la preservación de los recursos naturales, de conformidad como esta ley, otros ordenamientos aplicables y sus disposiciones reglamentarias”.

En relación con lo anterior cabe preguntarse ¿qué considera la ley como material peligroso? El artículo 3, fracción XXII, establece: elementos, sustancias, compuestos, residuos o mezclas de ellos que, independientemente de su estado físico, representen un riesgo para el ambiente, la salud o los recursos naturales, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables o biológico-infecciosas, representan un peligro para el equilibrio ecológico o el ambiente.

A. *La Constitución.* El artículo 27 constitucional, en su párrafo tercero, señala que la propiedad privada está sujeta a las modalidades que dicte el interés público, por la función social que se le asigna de acuerdo con el nuevo concepto de propiedad que ve en ella no sólo la utilidad particular de quien la

detenta, sino también la utilidad que debe reportar la sociedad. El viejo concepto romano del derecho irrestricto de uso, goce y libre disposición del bien por parte de su titular ha quedado abolido en la constitución, la cual limita el uso y disposición de los bienes tomando en cuenta que ellos deben satisfacer de manera adecuada las necesidades sociales y no solamente las particulares. De ahí que, en el párrafo mencionado, se disponga: La nación tendrá en todo tiempo el derecho de imponer a la propiedad privada las modalidades que dicte el interés público, así como el de regular, en beneficio social, el aprovechamiento de los elementos naturales susceptibles de apropiación, con objeto de hacer una distribución equitativa de la riqueza pública, cuidar de su conservación, lograr el desarrollo equilibrado del país y el mejoramiento de las condiciones de vida de la población rural y urbana. En consecuencia, se dictarán las medidas necesarias para ordenar los asentamientos humanos y establecer adecuadas provisiones, usos, reservas y destinos de tierras, aguas y bosques para preservar y restaura el equilibrio ecológico, fomentar la agricultura, ganadería, silvicultura y de las demás actividades económicas en el medio rural, y para evitar la destrucción de los elementos naturales que la propiedad pueda sufrir en perjuicio de la sociedad.

El Estado debe velar por la preservación del equilibrio ecológico y evitar la destrucción de los elementos naturales, para lo cual se faculta al congreso: “Para expedir leyes que establezcan la concurrencia del gobierno federal, de los gobiernos de los estados y municipios, en el ámbito de sus respectivas competencias, en materia de protección al ambiente y de la preservación y restauración del equilibrio ecológico” (artículo 73, frac. XXIXg). Por lo que, en materia ambiental, existe una concurrencia legislativa entre los tres órdenes de gobierno, como ya se había afirmado anteriormente.

*B. Ley Orgánica de la Administración Pública Federal.* La Ley establece las atribuciones que corresponden a las secretarías de gobierno federal y, en lo referente a la materia ambiental, se faculta a la Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca a establecer, con la participación que corresponda a otras dependencias, normas oficiales mexicanas sobre materia minera,

materiales peligrosos y residuos sólidos y peligrosos (artículo 32, bis fracción IV). A estas normas se hará alusión más adelante.

*C. Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente.* Esta ley es reglamentaria de las disposiciones constitucionales relativas a la preservación del equilibrio ecológico y la protección del ambiente en el territorio nacional (artículo 1°.) El capítulo VI reglamenta lo relativo a materiales y residuos peligrosos, los cuales deben manejarse de acuerdo con la ley, sus reglamentos y las normas oficiales mexicanas que expida la Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, previa opinión de las secretarías de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, de Comercio y Fomento Industrial, de Salud, de Energía, de Comunicaciones y Transportes, de Marina y de Gobernación. El reglamento y las normas oficiales mexicanas contendrán los criterios y listados que clasifiquen los materiales y residuos peligrosos, identificándolos por su grado de peligrosidad, de características y volumen (artículo 150).

La ley establece las responsabilidades de quienes manejan, transportan, almacenan, confinan materiales o residuos peligrosos (arts. 151, 151 bis y 152 bis). Por su parte, la Secretaría del Medio Ambiente promoverá tendientes a prevenir y reducir la generación de residuos peligrosos, así como a estimular su reusó y reciclaje (artículo 152).

En el artículo 153 se establecen los requisitos para la importación y exportación de materiales y residuos peligrosos, cuyo control y vigilancia ecológica corresponde a la Secretaría del Medio Ambiente, sin perjuicio de lo que prevé la ley aduanera. El Reglamento de la Ley en materia de residuos peligrosos norma todo lo relativo al almacenamiento, recolección, transporte, alojamiento, reuso, tratamiento, reciclaje, incineración y disposición final (artículo 9). Es de notar que no se haya incluido en él lo relativo a sustancias peligrosas. No obstante, si se trata en el decreto relativo a la importación o exportación de materiales o residuos peligrosos que por su naturaleza pueden causar daños al medio ambiente o a la propiedad o constituyan un riesgo a la salud o bienestar públicos. Corresponde a la secretaría la expedición de las guías ecológicas para la importación y exportación de materiales y residuos peligrosos, sin perjuicio de lo que otras leyes o reglamentos dispongan. Sin embargo, no se concederá guía ecológica para la importación de materiales o residuos



peligrosos cuyo único objeto sea su disposición final en el territorio nacional (Decreto, artículo 10). En el artículo 14 se dispone, además, que los materiales y residuos peligrosos generados en los procesos de producción de materias primas introducidas al país bajo el régimen de importación temporal, deberán ser devueltas al país de procedencia.

D. *Ley General de Salud*. Por lo que hace a la salud humana, corresponden a la Secretaría de Salud, en coordinación con otras dependencias federales, la clasificación y las características a que hace referencia la ley, entre las cuales se encuentran las sustancias tóxicas y, por lo tanto, peligrosas para la salud de las personas, como son los plaguicidas y fertilizantes (artículo 278). A la Secretaría le corresponde el control sanitario de los productos y materias primas de importación y exportación señalados en la ley. Por lo que se refiere a la importación de plaguicidas y componentes de acción residual o de los de cualquier composición química, únicamente se autorizará cuando éstos no entrañen un peligro para la salud humana y no sea posible la sustitución adecuada de los mismos (artículos 298).

E. *Ley Federal del Trabajo*. La ley, en el título noveno relativo a los riesgos del trabajo, dispone que, en los reglamentos del trabajo, se fijarán las medidas necesarias para prevenir los riesgos de trabajo y lograr que éste se preste en condiciones que aseguren la vida y la salud de los trabajadores (512), por lo que el “Reglamento General de la Seguridad e Higiene en el Trabajo” norma el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias peligrosas que puedan poner en riesgo la salud y la vida de los que laboran de trabajo (artículo 122ss).

F. *Legislación agraria*. La nueva legislación agraria, en diversos ordenamientos, se caracteriza por su aspecto biológico, ya que pretende, dentro de la actividad agropecuaria y silvícola, como uno de sus fines primordiales, no sólo el aprovechamiento sustentable de los recursos naturales sino también la protección de la vida de los vegetales animales, creando instituciones que aseguran un nuevo sistema de relaciones del hombre con los demás seres vivos de la naturaleza, con una perspectiva ambientalista. Sin embargo, llama la atención el hecho de que tanto la ley agraria como las leyes de sanidad

animal y sanidad vegetal no contengan disposiciones expresas en relación con el uso de sustancias peligrosas que puedan dañar la vida de los vegetales y animales. La ley agraria hace una breve referencia al cuidado y la conservación de los recursos naturales y a su aprovechamiento racional y sostenido para preservar el equilibrio ecológico, que deben fomentar las autoridades federales (artículo 5). La ley federal de sanidad animal, en relación con el manejo de sustancias peligrosas de aplicación animal, faculta a la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural a expedir normas oficiales que establezcan las características y especificaciones zoosanitarias que deberán reunir:

I.- Los productos y subproductos animales, así como los productos químicos, farmacéuticos, biológicos, y alimenticios, para su uso en animales o consumo por éstos y su proceso, que constituyan un riesgo zoosanitario.

Las normas oficiales fijarán tanto los límites máximos permitidos de residuos de antibióticos, compuestos hormonales, químicos y otros en productos y subproductos, así como el tiempo de eliminación de los mismos animales vivos.

Por lo que ve a la sanidad vegetal, la ley de la materia le otorga atribuciones a la secretaría para regular la efectividad biológica, aplicación, uso y manejo de insumos que tengan relación con la materia de sanidad vegetal (artículo 2), Así como coordinarse con las secretarías de Salud y Desarrollo Social para vigilar el cumplimiento de las normas oficiales mexicanas aplicables a los plaguicidas e insumos de nutrición vegetal (artículo 10).

La ley forestal dedica el capítulo VII a reglamentar la sanidad forestal y autoriza a la secretaría a dictar las normas oficiales mexicanas para prevenir, controlar y combatir las plagas y enfermedades forestales (artículo 30), lo que incluye el manejo de sustancias peligrosas. El reglamento de la Ley, en los artículos del 69 al 73 norma la manera en que deben realizarse estas actividades sanitarias.

*G. Otras leyes administrativas.* Otras leyes administrativas, aparte de las ya mencionadas, norman aspectos del manejo de materiales y residuos peligrosos. La ley federal sobre metrología y normalización establece el procedimiento uniforme para la elaboración de normas oficiales mexicanas por

las dependencias de la administración pública federal (artículo 2, fracción II, inciso c). Este ordenamiento dispone que todos los productos, procesos, instalaciones, servicios o actividades deberán cumplir con las normas oficiales mexicanas; por lo tanto, quedan incluidos el manejo y la disposición de materiales y residuos peligrosos (artículo 3, fracción XI): Aunque la Ley de Vías Generales de Comunicación no hace referencia expresa al transporte de materiales y residuos peligrosos, el reglamento para el transporte de materiales y residuos peligrosos lo norma en relación con el transporte terrestre (artículo 1), encomendando su ejecución a la Secretaría de Comunicaciones y Transportes y, en forma delegada, a las autoridades estatales y municipales (artículos 3 y 4). Se requiere permiso de la secretaría para transportar estos materiales por las vías generales de comunicación terrestre. El reglamento hace una clasificación de las sustancias peligrosas; de las normas de envase y embalaje; del etiquetado y marcado del envase y embalaje, con objeto de identificar sustancias, residuos peligrosos para reconocer sus riesgos, y las características, especificaciones y equipamiento de los vehículos motrices y unidades de arrastre por utilizar. Por último, cabe citar la ley federal de armas de fuego y explosivos, que encomendada a la Secretaría de la Defensa Nacional el control y la vigilancia de las actividades y operaciones industriales y comerciales que se realicen con armas, municiones, explosivos, artificios y sustancias químicas (artículo 37).

Estas son las leyes federales más importantes sobre el tema que venimos tratando, dada la concurrencia que en esta materia existe tanto legislativa como de autoridades.

### **Las normas oficiales mexicanas**

Una de las características del derecho ambiental es que su normativa incluye prescripciones rigurosamente técnicas, en todos los aspectos relativos de la conservación de la salud humana, de la naturaleza y a todas las actividades humanas que puedan perturbarla. A estas normas se les designan en nuestro derecho normas oficiales mexicanas. La ley federal sobre la metrología y normalización define a la norma como “la regulación técnica de observación obligatoria expedida por las dependencias competentes, conforme a las finalidades establecidas en el artículo 40, que establece reglas,

especificaciones, atributos, directrices, características o prescripciones aplicables a un producto, proceso, instalación, sistema, actividad, servicio o método de producción u operación así como aquellas relativas a terminología, simbología, embalaje, marcado o etiquetado y las que se refieren a su cumplimiento a aplicación” (artículo 3). El artículo 40 de la ley considera, entre otras finalidades, establecer: a) las características y/o especificaciones que deben reunir los productos y procesos cuando éstos puedan constituir un riesgo para la seguridad de las personas o dañar la salud humana, animal, vegetal, el medio ambiente general y laboral, o para la preservación de recursos naturales; b) las características y especificaciones de los productos utilizados como materias primas o partes o materiales de productos finales sujetos al cumplimiento de estas normas, y c) todas las demás características especificaciones relativas a servicios, envases, embalajes, seguridad e higiene en el trabajo, de protección del medio ambiente y ecosistemas, instalaciones industriales, comerciales, de servicios y domésticas.

Las normas oficiales mexicanas son muy numerosas, pues reglamentan aspectos muy variados de actividades industriales, agropecuarias, comerciales y de servicios. Sometidas a cambios frecuentes debidos a continuos avances de los conocimientos científicos y tecnológicos, no es posible presentar un cuadro con cierta permanencia de las normas oficiales mexicanas relativas al manejo de materiales y residuos peligrosos. Mencionaremos, a guisa de ejemplo, las siguientes:

NOM-CRP-001-ECOL-93. Establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.

NOM-CRP-002-ECOL-93. Norma el procedimiento para llevar a cabo la prueba de extracción para determinar los constituyentes que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.

NOM-CRP-003-ECOL-93. Fija el procedimiento para determinar la incompatibilidad entre dos o más residuos considerados como peligrosos.

NOM-CRP-004-ECOL-93. Señala los requisitos que deben reunir los sitios destinados al confinamiento controlado de residuos peligrosos, excepto los radiactivos.

NOM-CRP-005-ECOL-93. Establece los requisitos para el diseño y la construcción de las obras complementarias de un confinamiento controlado de residuos peligrosos.

NOM-CRP-006-ECOL-93. Ordena los requisitos que deben observarse en el diseño, la construcción y operación de celdas de un confinamiento controlado, para residuos peligrosos.

NOM-CRP-007-ECOL-93. Señala los requisitos para la operación de un confinamiento controlado de residuos peligrosos.

Cabe aclarar que un material o residuo peligroso no lo es sólo por su toxicidad, como podría deducirse de las normas antes mencionadas sino también por su corrosividad, reactividad, explosividad, inflamabilidad y características biológico-infecciosas.

Las normas sobre sustancias legales y residuos peligrosos, dispersas en diversos ordenamientos legales y normas oficiales mexicanas, hacen muy difícil su conocimiento y manejo, más si se toman en cuenta las continuas modificaciones que sufren para adaptarlas a las condiciones cambiantes de una sociedad industrial en constante mutación.

#### Citas para búsqueda

[http://books.google.com.mx/books?id=qrrYZJhrRm4C&printsec=frontcover&dq=CODIGO+GENETICO+BIOLOGIA+AVANZADA&hl=es&sa=X&ei=\\_JZNUrPVBqG9jAKAq4DgDQ&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.mx/books?id=qrrYZJhrRm4C&printsec=frontcover&dq=CODIGO+GENETICO+BIOLOGIA+AVANZADA&hl=es&sa=X&ei=_JZNUrPVBqG9jAKAq4DgDQ&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false)