

L@s Zapatistas y Las ConCiencias por la Humanidad

Qué son los mutágenos y dónde están

Dra. Patricia Ramos Morales

prm@ciencias.unam.mx

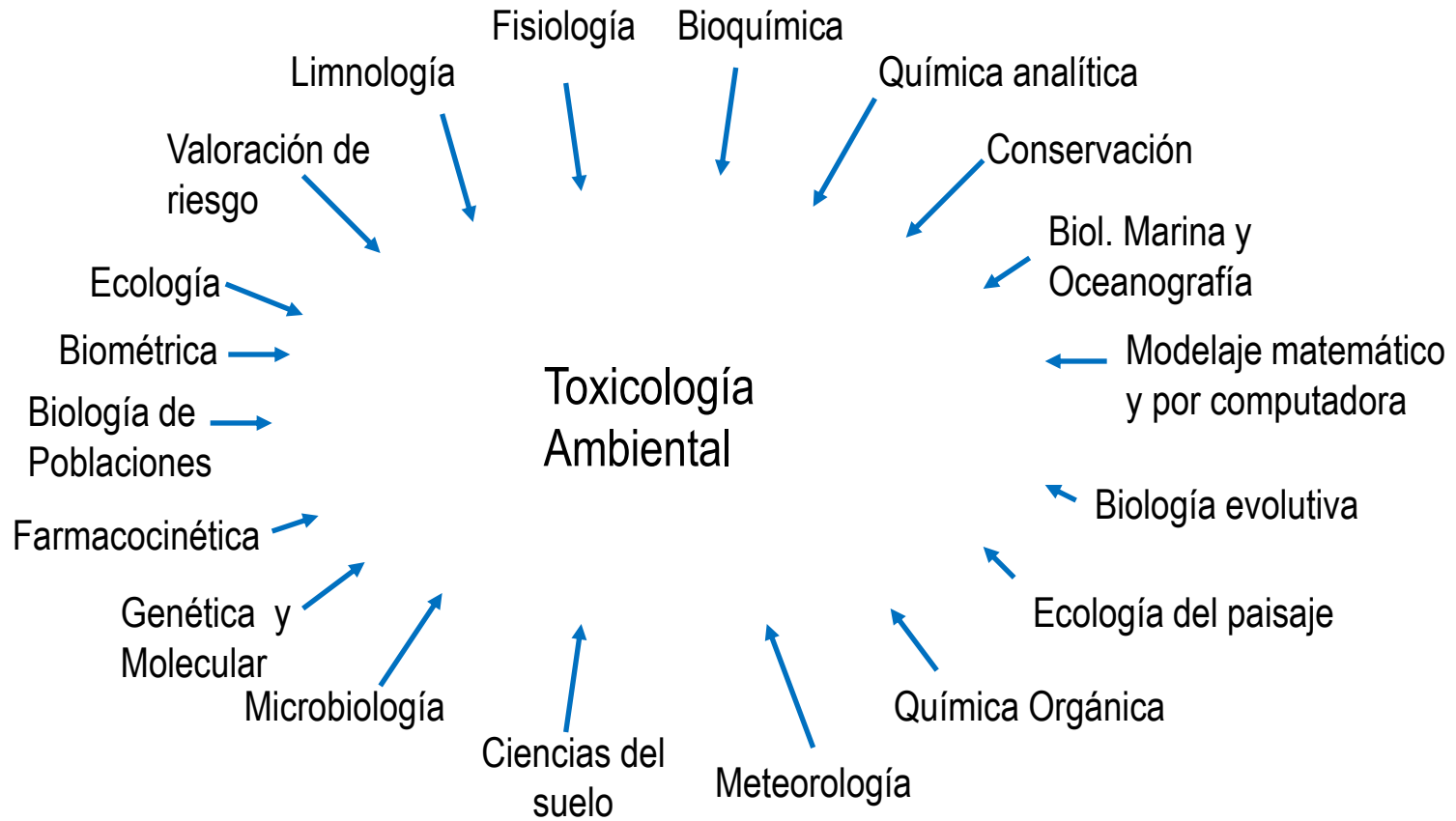
Lab. Genética y Toxicología Ambiental - Banco de Moscas,

Fac. Ciencias, UNAM

27 de diciembre de 2016



La toxicología ambiental es un área interdisciplinaria:

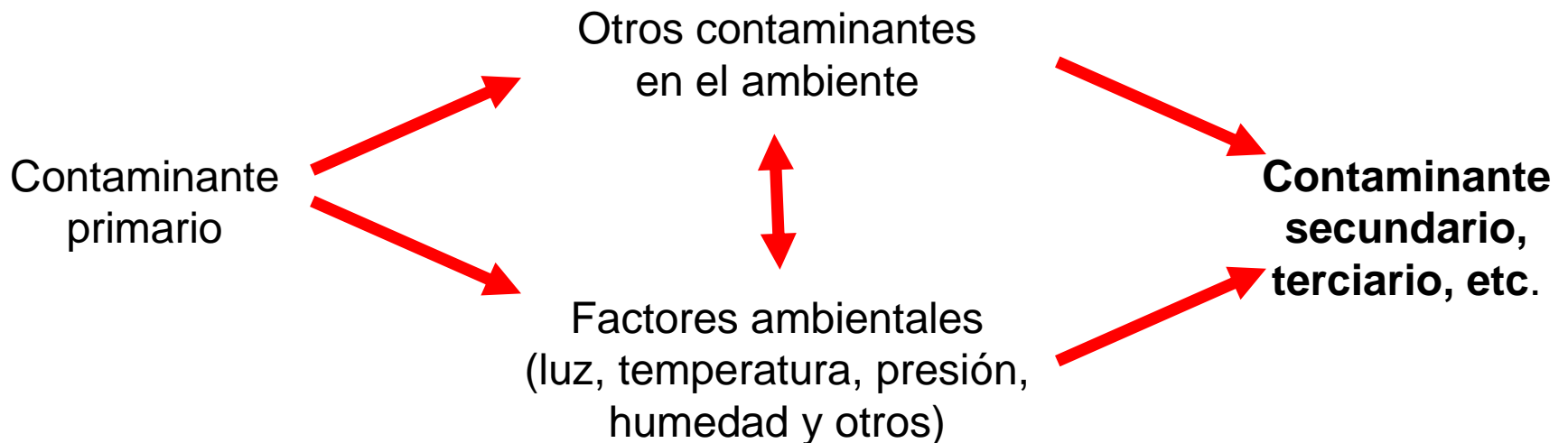


Un **mutágeno** es cualquier sustancia o factor físico, químico o biológico que provoca cambios en el material hereditario de los organismos

Contaminante: Cualquier forma de materia o energía presente en un medio al que no pertenece, o bien, que se encuentra por arriba de su concentración basal

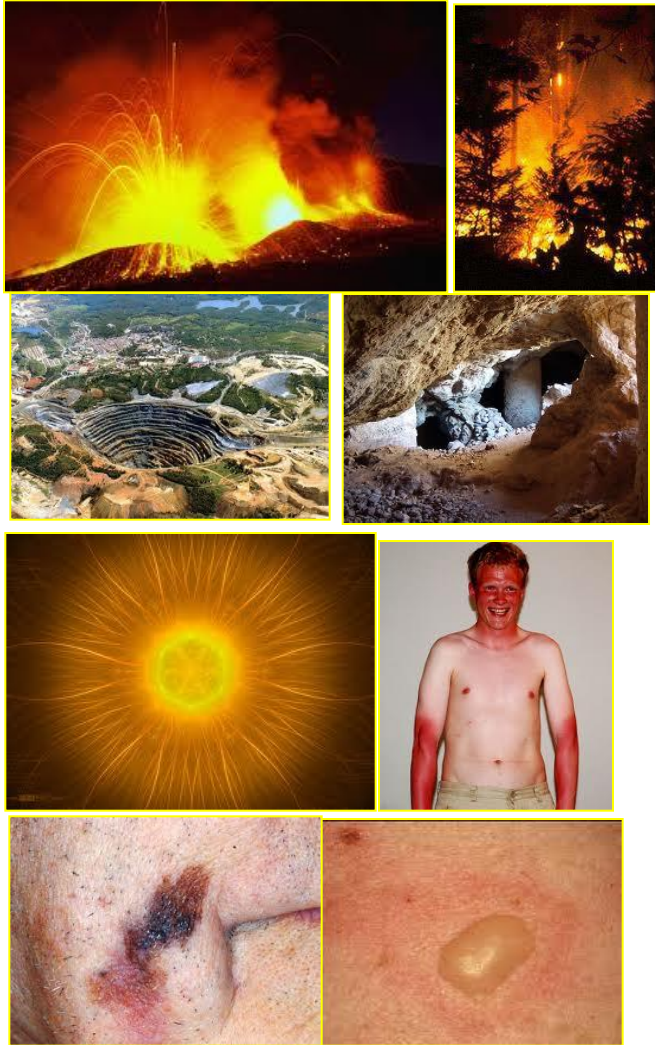
(Ballatori y Villalobos, 2002).

Contaminante primario: aquel que se emite directamente a la atmósfera por una fuente específica.

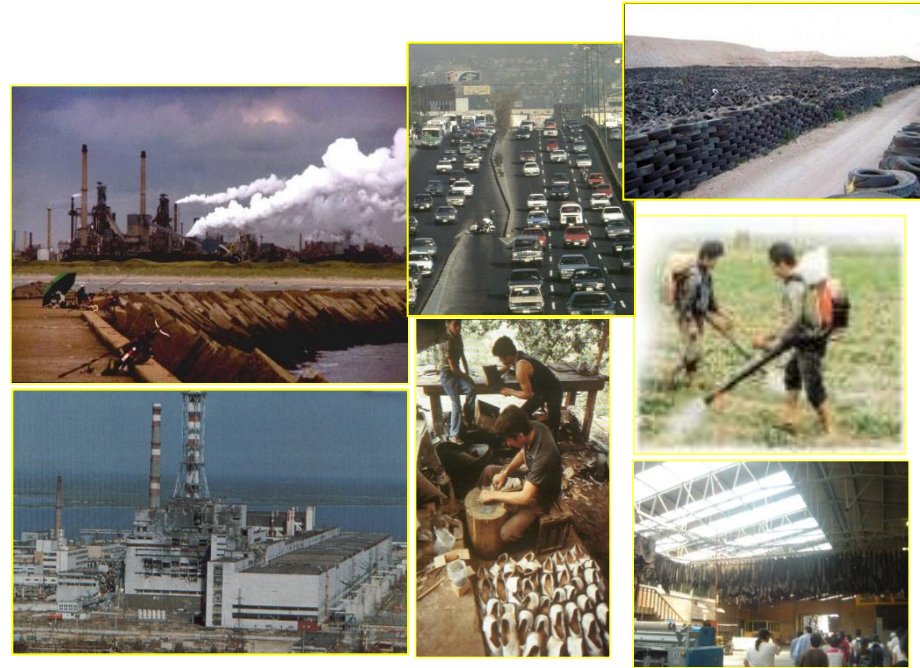


Fuentes de emisión de contaminantes. Origen

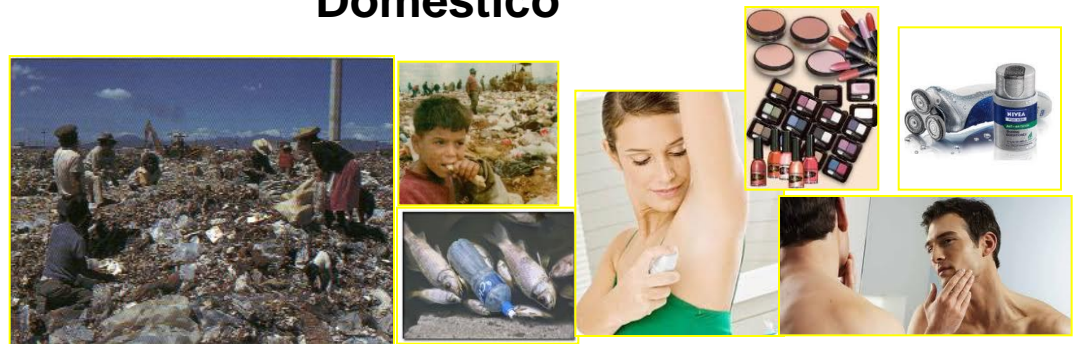
Natural



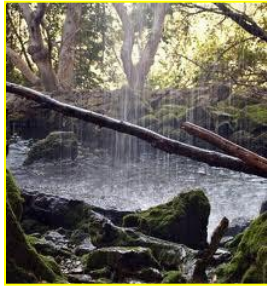
Antropogénico: Industrial, Agrícola



Doméstico



Transporte



Absorción:



Respiración



Contacto



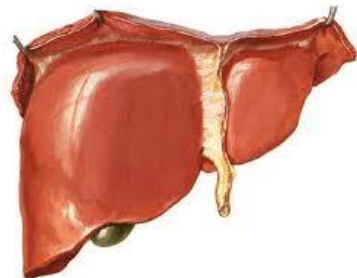
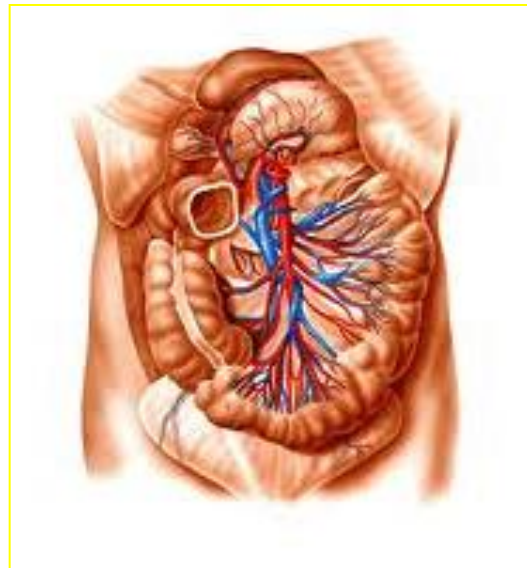
Alimentación



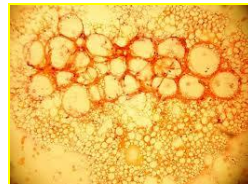
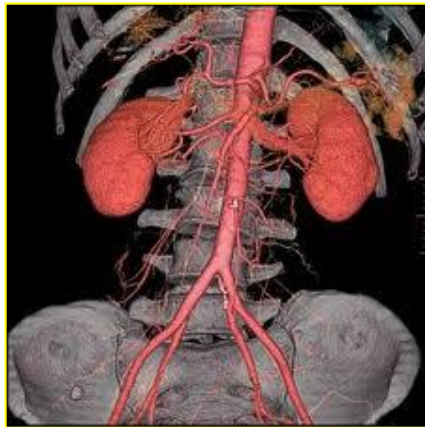
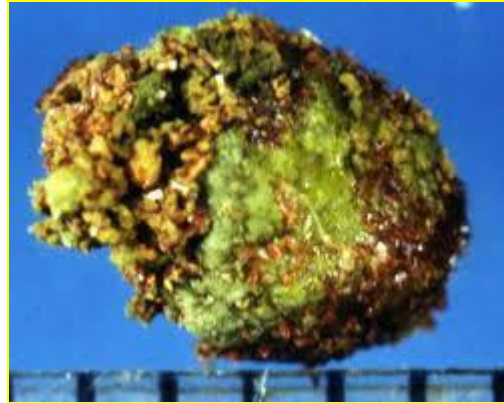
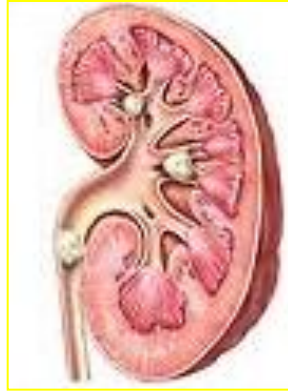
Rutas artificiales



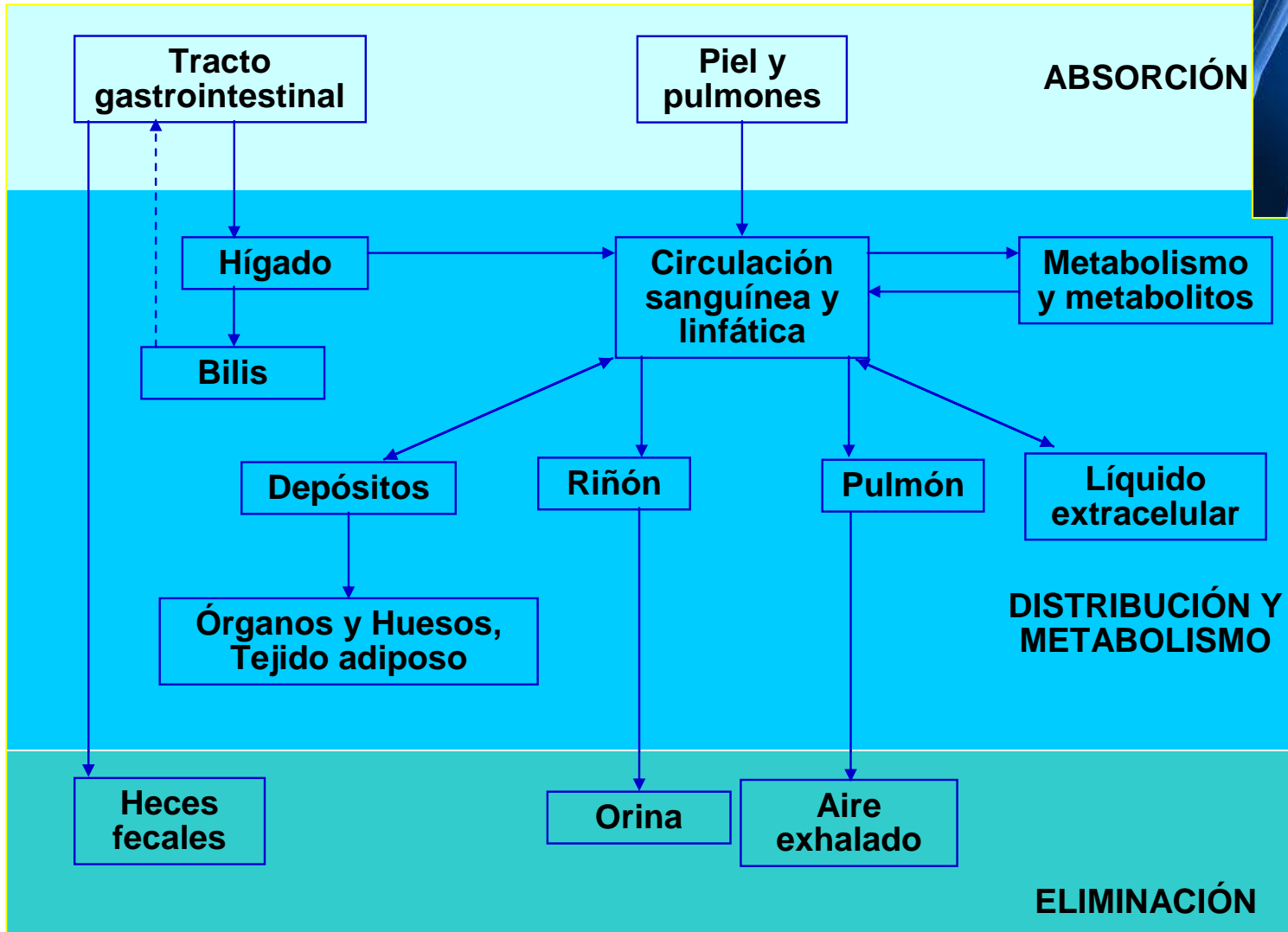
Distribución

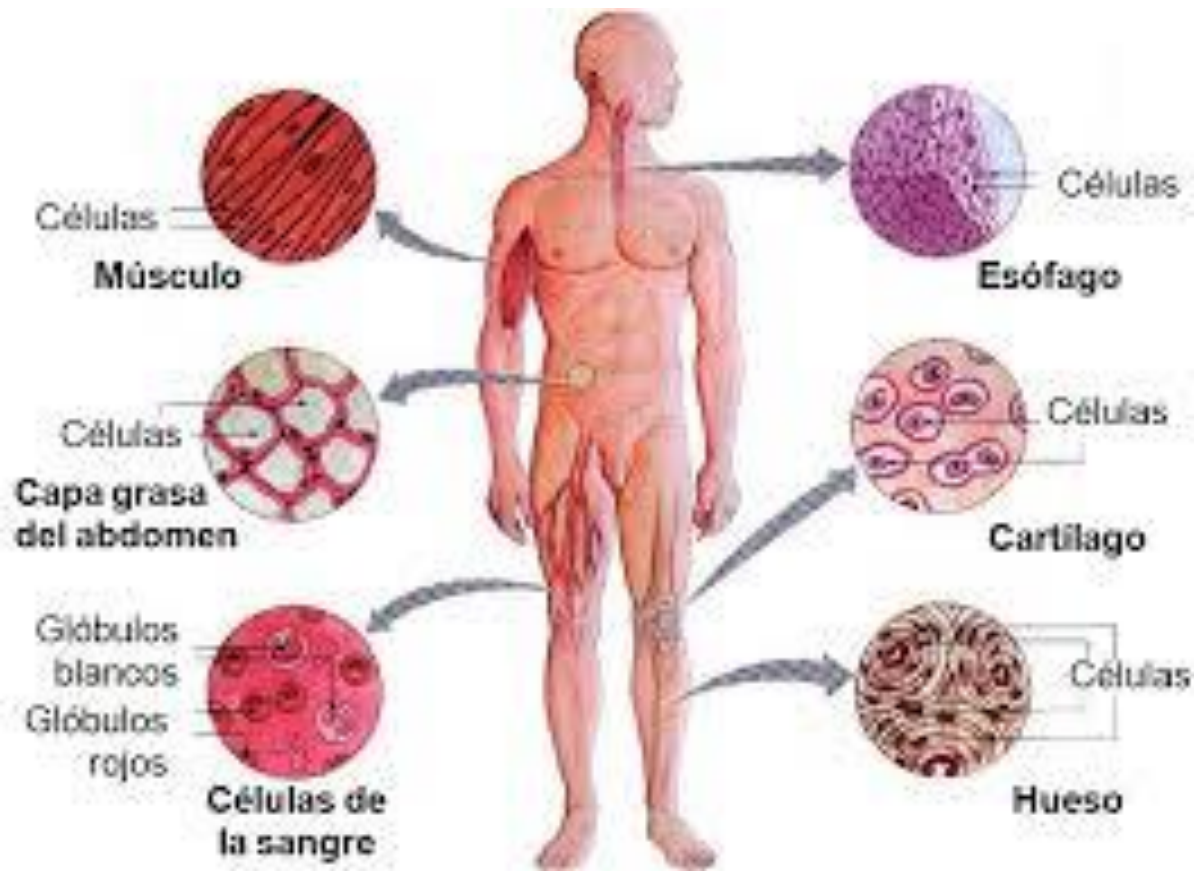


Eliminación y excreción



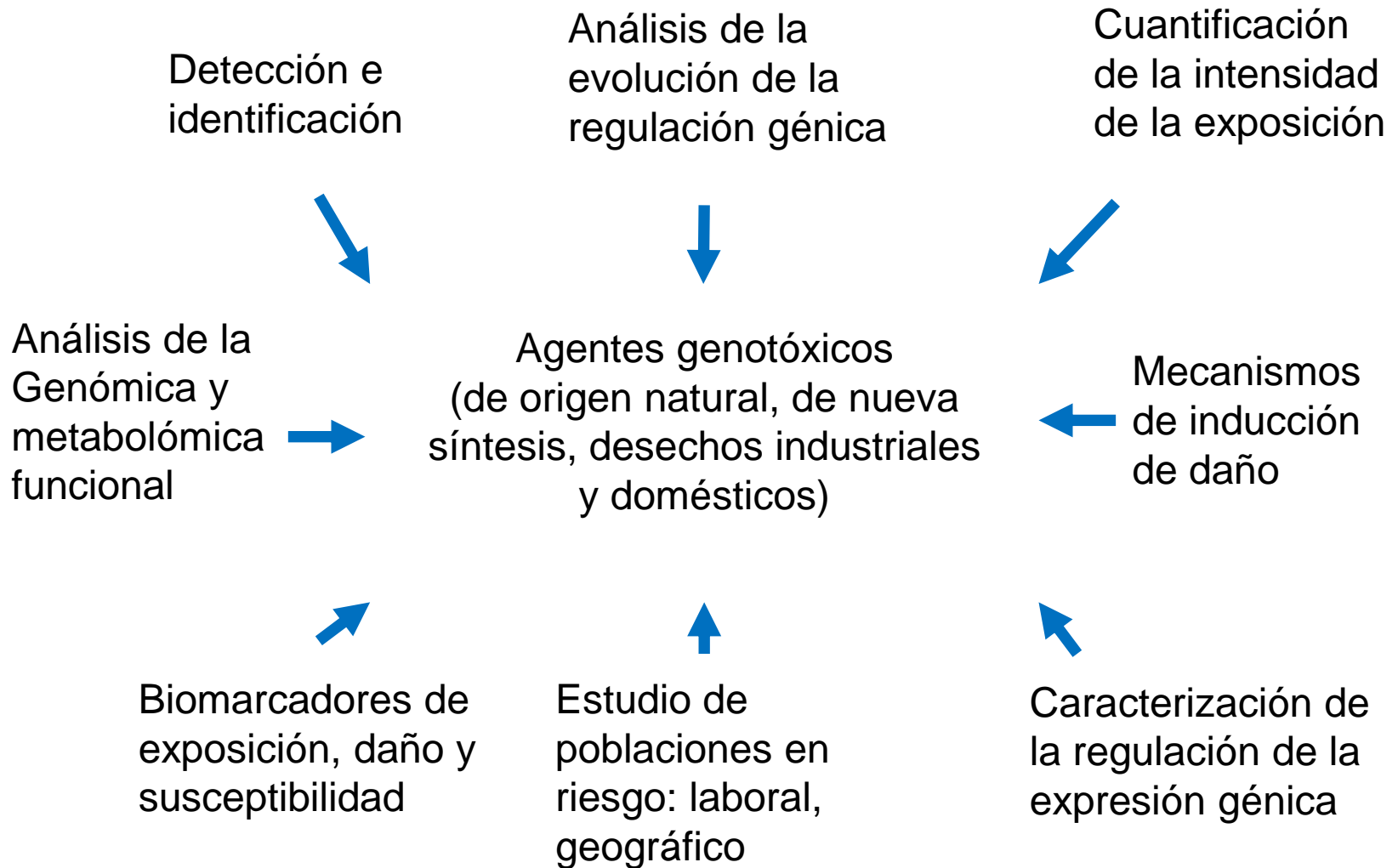
Biotransformación





Nuestro cuerpo está formado por órganos y los órganos con tejidos y células específicos para realizar una función, por ejemplo las células de los músculos y las que construyen y mantienen a los huesos.

¿Qué se toma en cuenta en el estudio de los contaminantes genotóxicos?



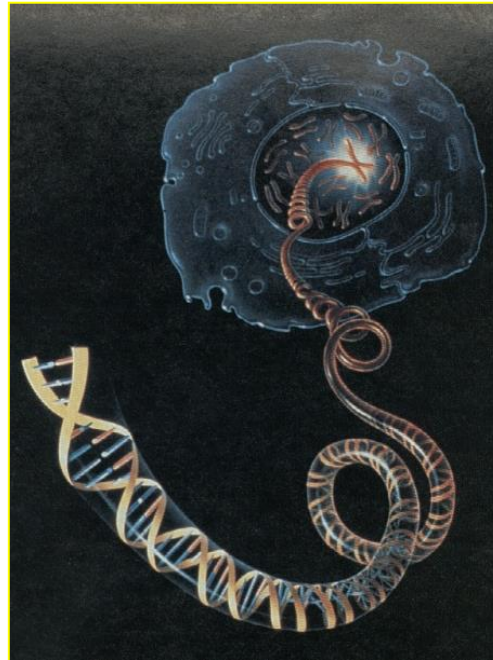
En la **toxicología genética** el interés se centra en el impacto que representan los contaminantes en el **material hereditario de los organismos**. A aquellos agentes que tienen la capacidad de alterar el material genético se les denomina **genotóxicos**

Núcleo:

DNA → preRNAm

Citoplasma:

RNAm → Proteínas



Células:

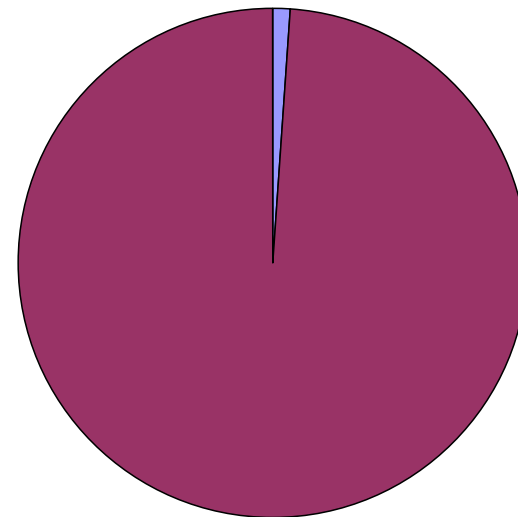
- Somáticas
- Sexuales
- Indiferenciadas.



Modelo del Ácido Desoxirribonuléico o DNA). Un código de cuatro bases químicas: adenina (A), guanina (A), citocina (C) y timina (T) almacena la información genética de los organismos.

Tenemos dos copias de cada gen (materno y paterno). La mayoría de los genes son los mismos en todas las personas, pero un pequeño número (menos del 1 % del total) son ligeramente diferentes.

Genes comunes y diferentes en seres humanos



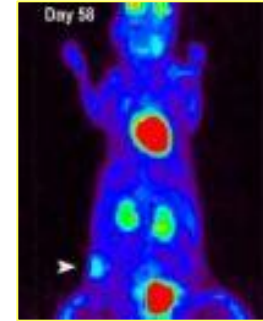
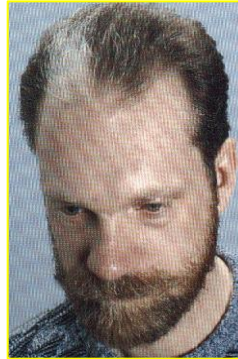
■ genes diferentes ■ genes comunes

Los contaminantes genotóxicos pueden afectar:

células sexuales



Células somáticas



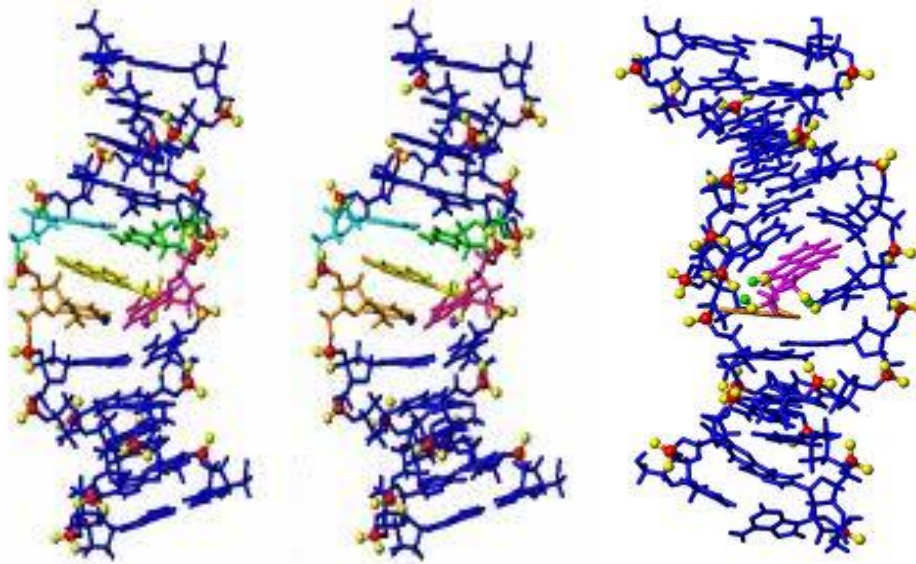
Células en proceso de diferenciación (durante la formación de un organismo)



Agentes intercalantes

Moléculas pequeñas y planas que se intercalan en la estructura del material hereditario, como el DNA

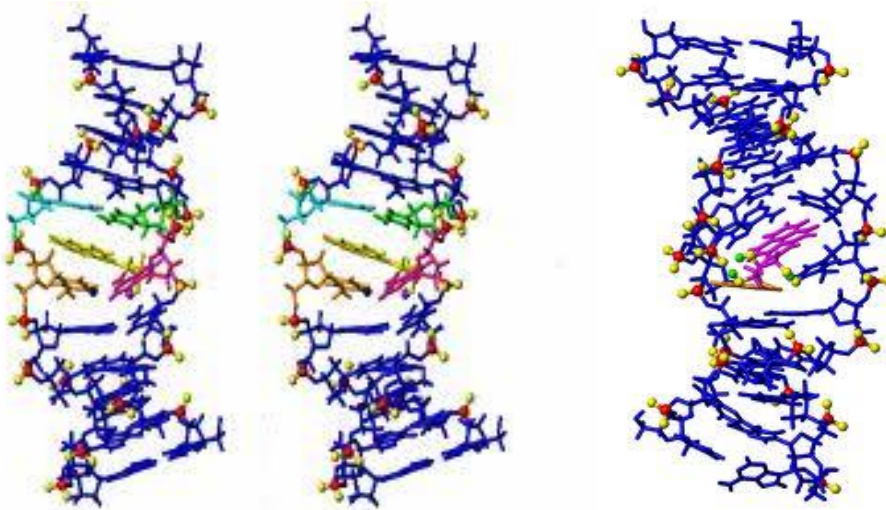
(Las plantas en los escalones de la escalera afectan su uso, como las moléculas intercalantes afectan al material hereditario)



Interfieren con la replicación del DNA (delección o aumento de bases), alteran la compactación del DNA y provocan rompimientos de una hebra.

Agentes intercalantes

Moléculas pequeñas y planas que se intercalan en la estructura del DNA, pueden romperlo y producir malformaciones en los hijos de padres expuestos



Interfieren con la replicación del DNA y provocan la pérdida o ganancia de bases, alteran la compactación del DNA y provocan rompimientos de una hebra.



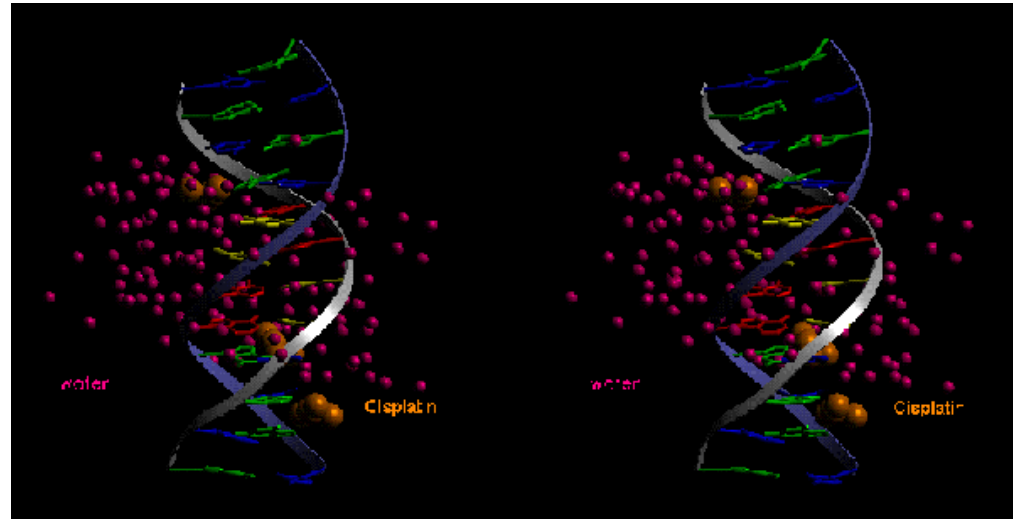
Algunos agentes intercalantes se utilizan para provocar la caída de las hojas de la vegetación.

Moléculas que forman complejos o Aductos DNA-proteínas

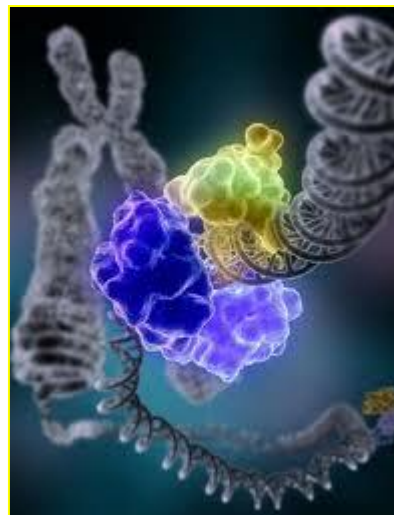
Moléculas grandes que se unen al DNA o a las proteínas formando enlaces fuertes



(En la escalera, las macetas afectan su estabilidad y pueden llegar a provocar la ruptura de algún escalón o de un poste)



Aducto Cisplatino - DNA



Interfieren con la replicación del DNA, alteran la compactación del DNA y provocan rompimientos de una y dos hebras.

Las radiaciones producen rompimientos sencillos, dobles y dímeros T:T, C:T, C:C

RADIACIONES IONIZANTES
EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS RADIACIONES IONIZANTES

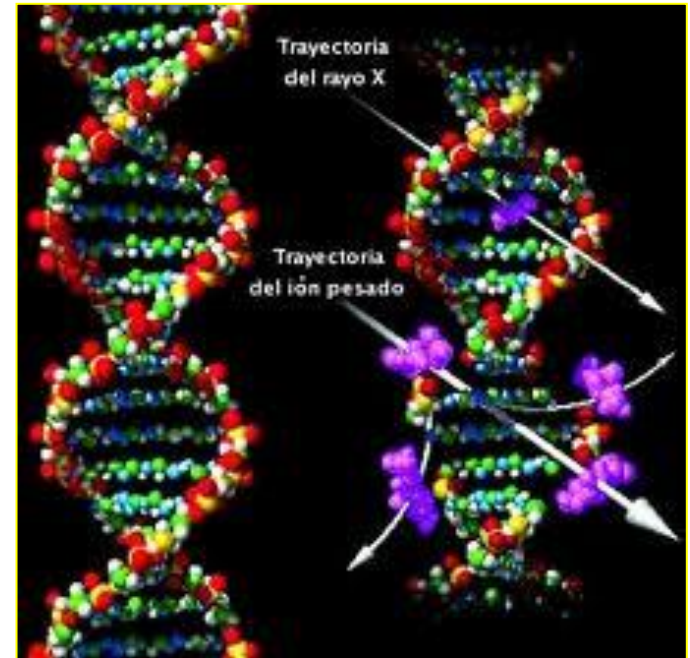
RADIOLISIS DEL AGUA

$$\begin{array}{l}
 \text{H}^+ + \text{OH}^- \\
 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^\cdot \\
 \text{H}^+ + \text{OH}^-
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{l} \text{H}^+ + \text{OH}^- \\ \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^\cdot \\ \text{H}^+ + \text{OH}^- \end{array}} \right\}
 \begin{array}{l}
 \text{H}_2 \\
 \text{H}_2\text{O}_2 \text{ MUY REACTIVOS} \\
 \text{HO}_2^\cdot
 \end{array}$$

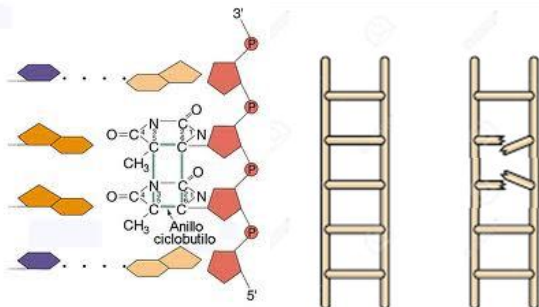
DIRECTA

INDIRECTA

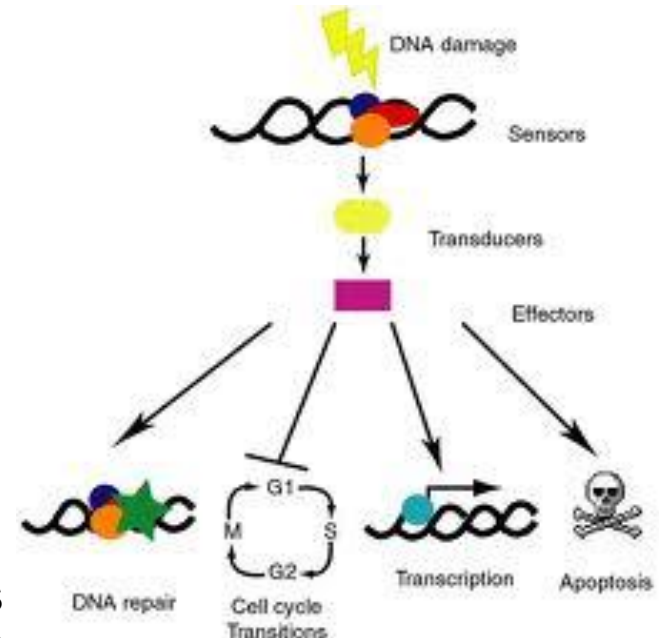
ADN



Las radiaciones pueden facilitar la unión de sus bases (peldaños en la escalera) . . .



. . . o la ruptura de las hebras de la molécula (rompimiento de uno o los dos postes de la escalera)



Además de la actividad mutagénica de los contaminantes, éstos se asocian con efectos en la salud como intoxicaciones, alergias, enfermedades crónicas (cáncer), con problemas reproductivos (fertilidad) y con malformaciones en la descendencia de los organismos expuestos o en su conducta.



Cáncer



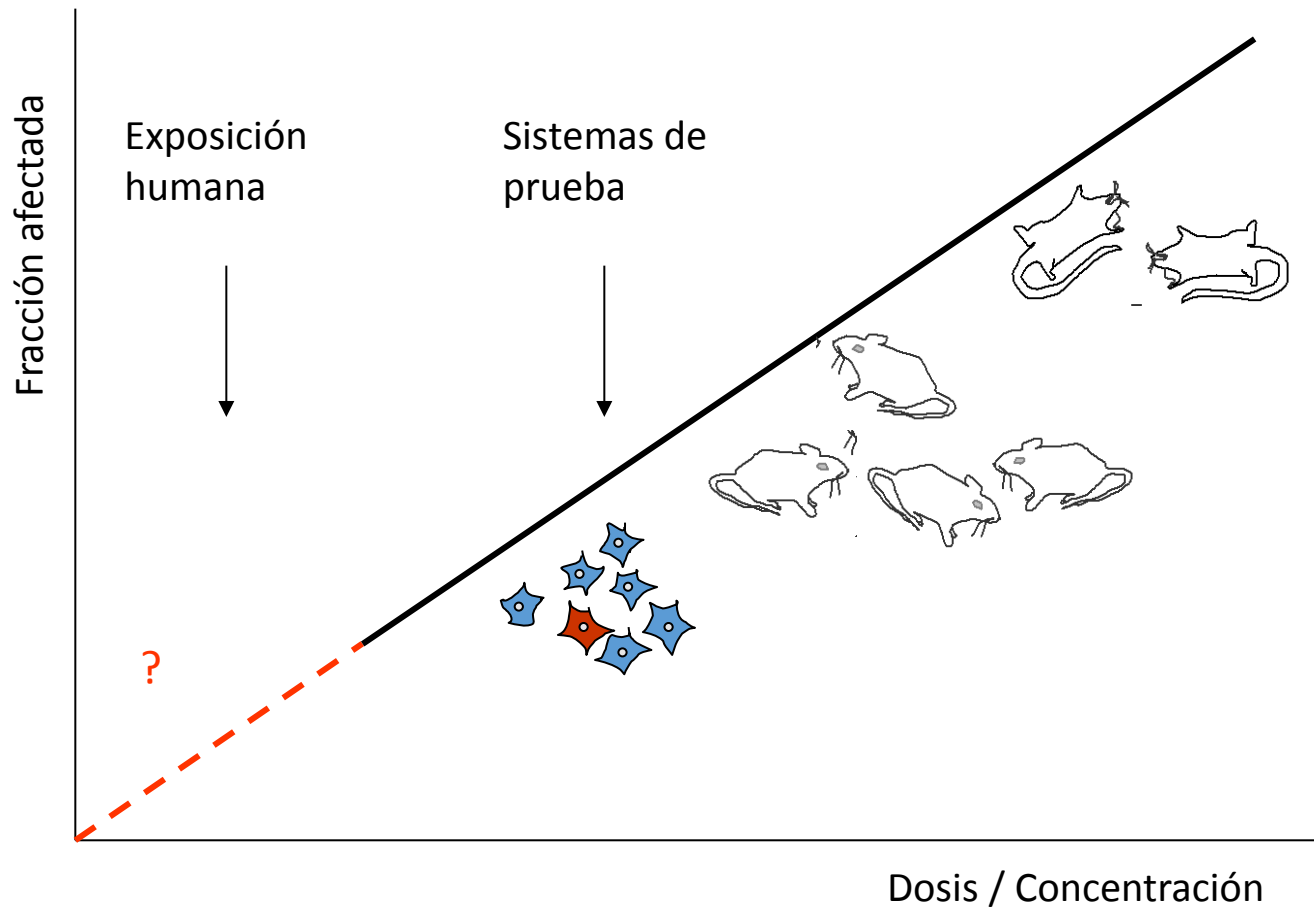
Problemas reproductivos



Malformaciones

¿Qué concentraciones usar?

- 1) Las concentraciones en las que se obtienen efectos no ambiguos son sumamente altas.
- 2) Los reportes sobre el efecto de genotóxicos a bajas concentraciones son escasos y controversiales.



¿Qué organismos usar?

El uso de organismos modelo en investigación se basa en que los mecanismos involucrados en los efectos de los contaminantes en los seres humanos y otros organismos son similares



Mi grupo de investigación utiliza a la mosca del vinagre porque es fácil de mantener en laboratorio, se conocen bien sus características y su presencia está asociada al ser humano porque consume parte de su dieta (fruta madura)

Drosophila melanogaster

Mosca del vinagre

Organismo eucarionte ampliamente conocido, comparte 60 % de su genoma con el humano.

Progenie numerosa,

-100 años de uso en investigación,

-Primer metodología para estudiar mutagénesis (ClB),

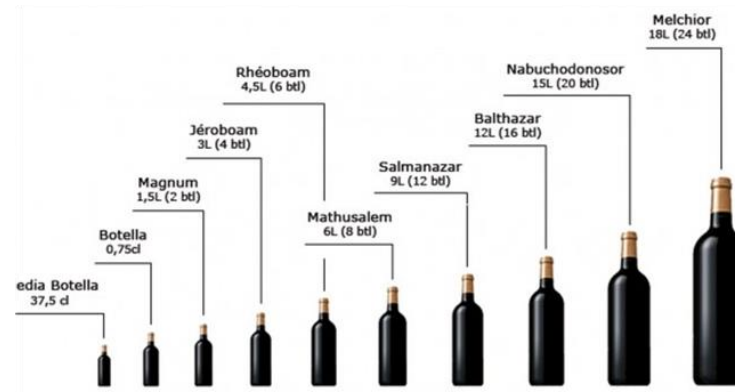
-Células germinales, somáticas y en proceso de diferenciación,

-Estudios: Molecular – celular – organismo – población,

-*In vitro* – *In vivo*



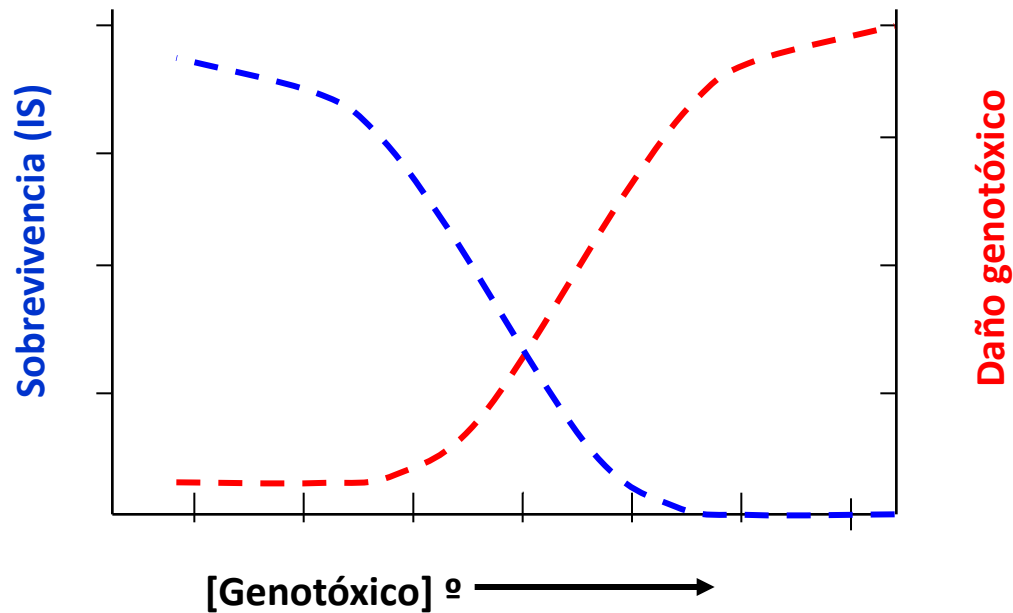
Casi cualquier sustancia puede ser peligrosa. Todo depende de la dosis o la concentración utilizada.



Los contaminantes de más interés son aquellos con baja toxicidad porque no alertan a los organismos y pueden ingresar al cuerpo cantidades importantes, antes de que se detecte su presencia.

¿?

Relación: concentración de genotoxina – daño genético
vs Índice de sobrevivencia (IS)



A continuación presento un ejemplo de evaluación del potencial mutagénico del glifosato, un herbicida que sirve de base para el cultivo de cultivos transgénicos como el maíz.

La planta transgénica ha sido modificada para resistir a la presencia del glifosato, de manera que cuando las plantas transgénicas inician su crecimiento, se administra el glifosato con la finalidad de eliminar a las malas hierbas que crecen en el cultivo y que no resisten la presencia del herbicida.

Se argumenta que el glifosato no daña a los animales ni al ser humano porque la enzima a la que bloquea (sitio blanco) es exclusiva de las plantas. Sin embargo, no se ha establecido si este herbicida pudiera afectar a enzimas animales con propiedades similares a las de la enzima vegetal blanco.

Glifosato

Es un ácido orgánico débil (C₃H₈NO₅P) usado como base de herbicidas específicos. Es el herbicida más usado a nivel mundial.

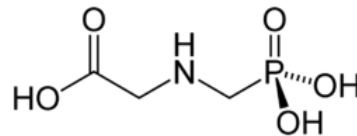
En México, el Roundup© (48 gr/L i.a.) y el Aquamaster© (53.5 g/L i.a.) (Monsanto) se utilizan para control del lirio acuático y para conservación de parques y jardines.

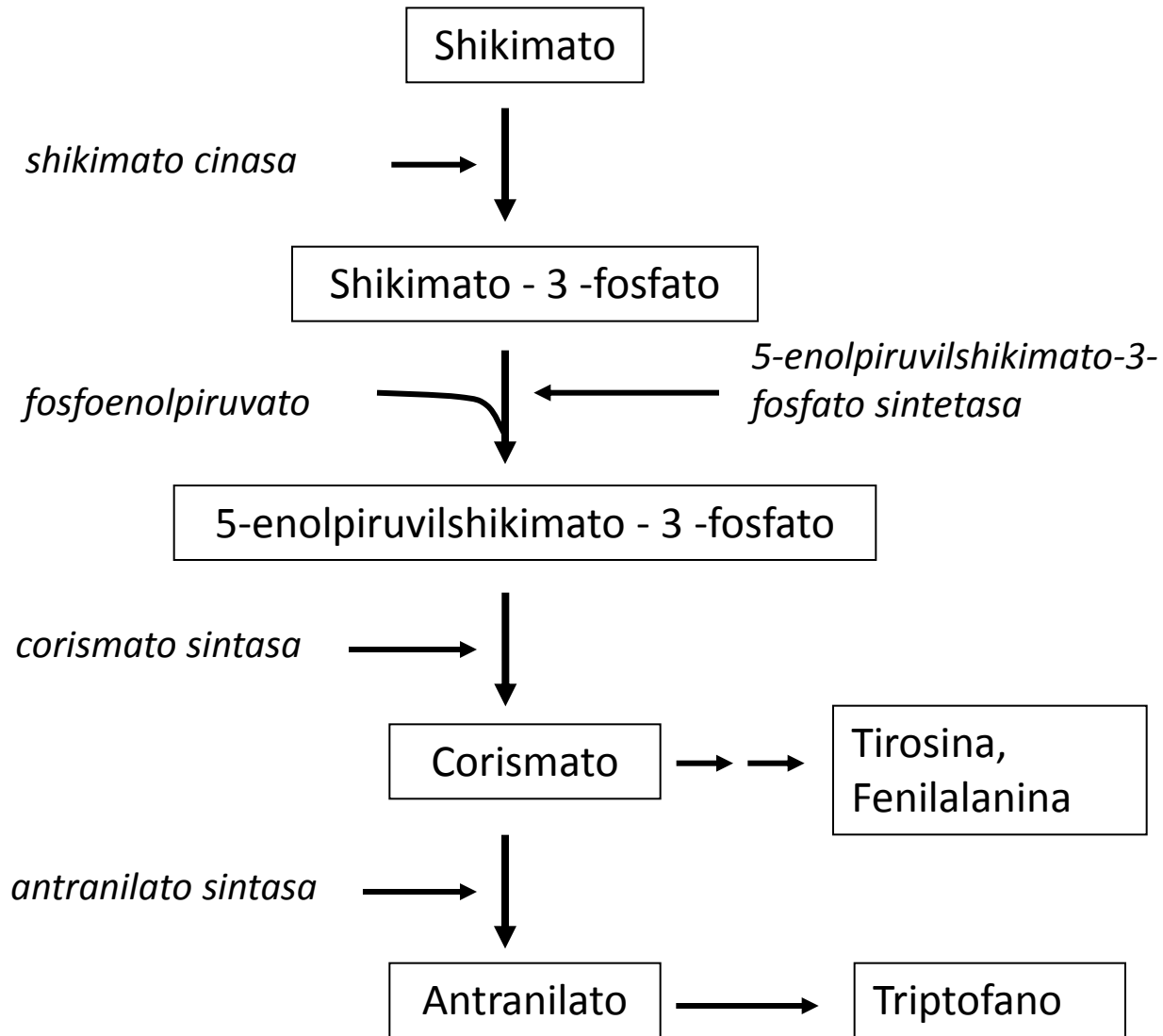
Las dosis de aplicación recomendadas no superan los 5,8 kg de i.a./ha y dependen del tipo de uso. Para cuerpos de agua se utiliza un rango de 0.5 a 25 gr/L.

- Inhibe a la enzima 5-enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS)

-Interfiere con la producción de los aminoácidos aromáticos, provocando la muerte de las plantas.

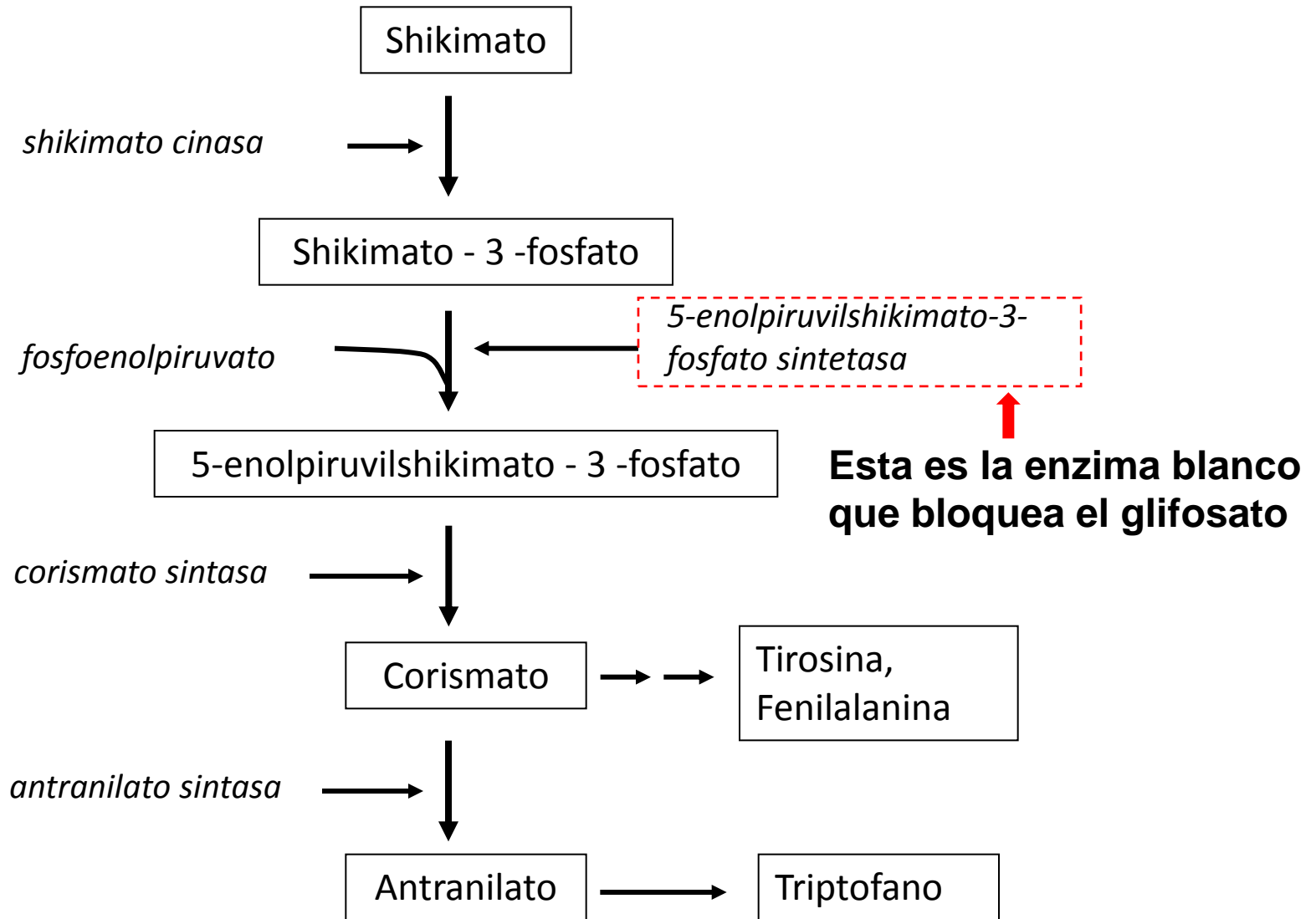
-Cultivos transgénicos resistentes a glifosato.





Ruta biosintética de los aminoácidos aromáticos

(Hayes, 2008)



Ruta biosintética de los aminoácidos aromáticos

(Hayes, 2008)

Hipótesis:

El glifosato afectará enzimas o rutas enzimáticas con funciones similares conservadas en sistemas animales.

Objetivo:

Determinar el efecto de la exposición semicrónica al Glifosato durante el desarrollo de *Drosophila melanogaster* mediante biomarcadores de:

Toxicidad:

Índice de Supervivencia

Proporción sexual

Reprotoxicidad:

Fertilidad

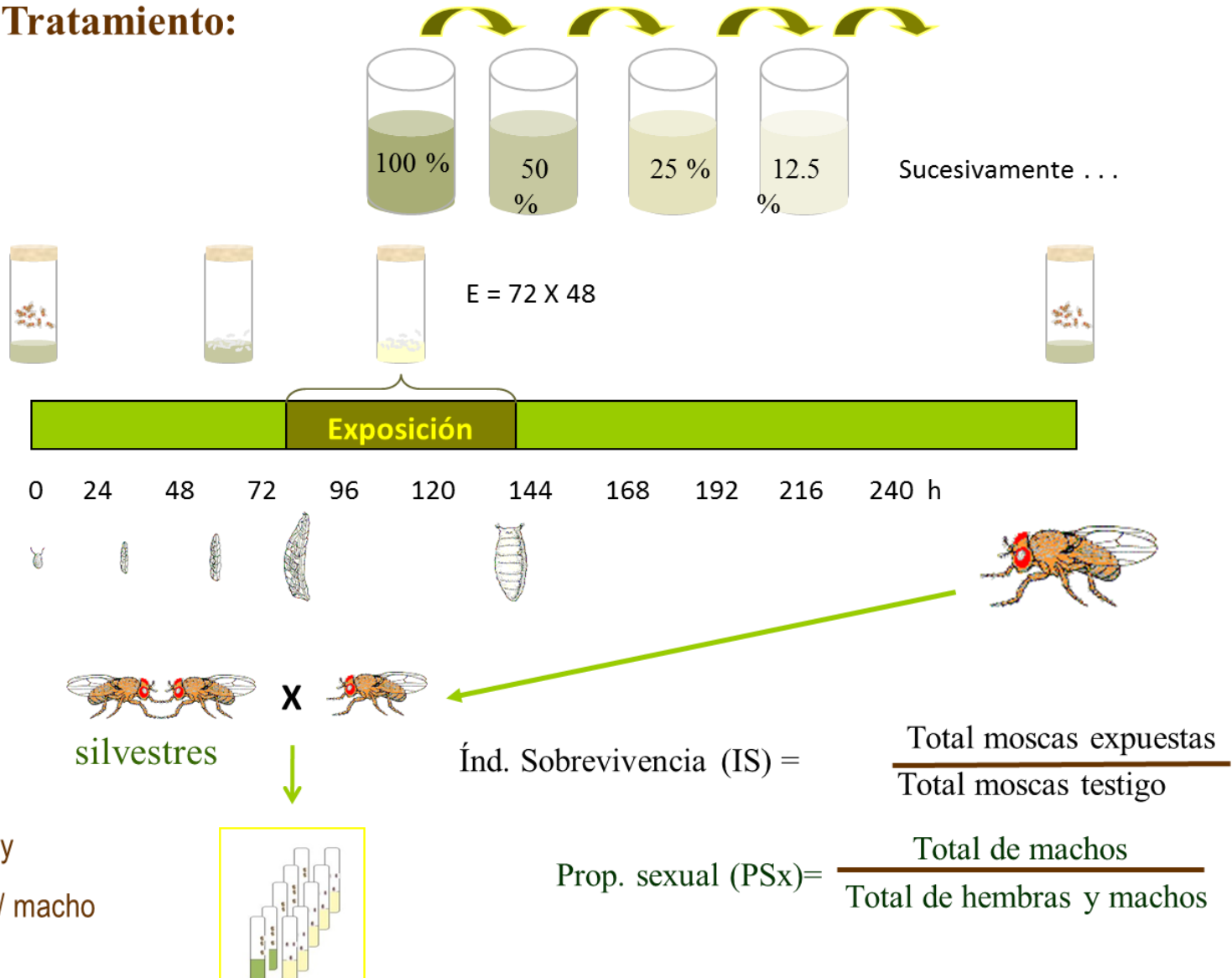
Progenie promedio por macho tratado

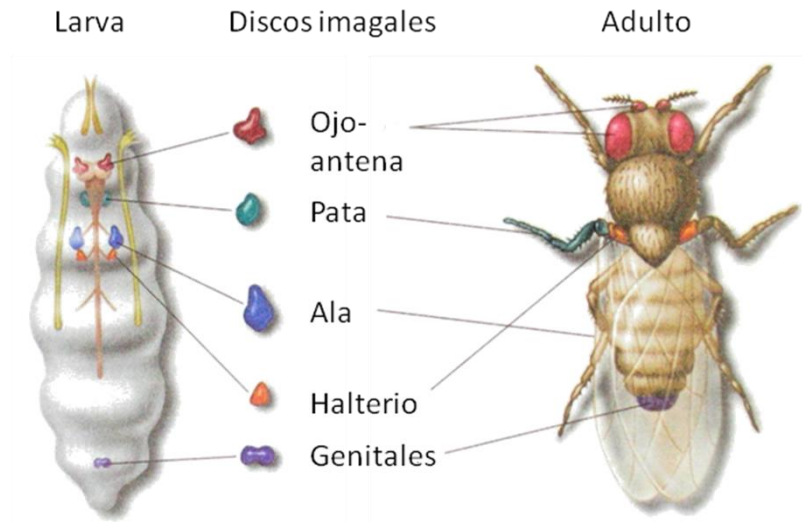
Genotoxicidad:

Inducción de mutación somática y recombinación mitótica

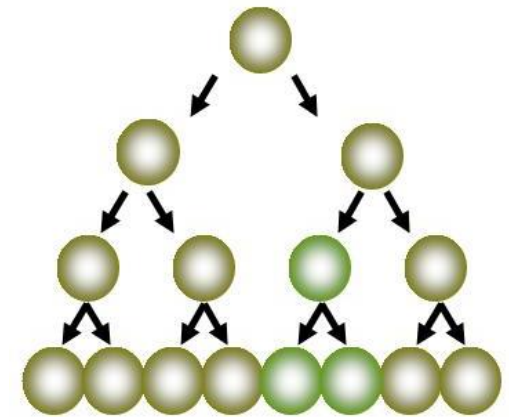
Las larvas de la mosca son expuestas a alimento que contiene diversas concentraciones de glifosato. Cuando salen las moscas adultas, los machos se cruzan con hembras no expuestas y se forman familias para analizar el efecto del tratamiento en sus hijos.

Tratamiento:

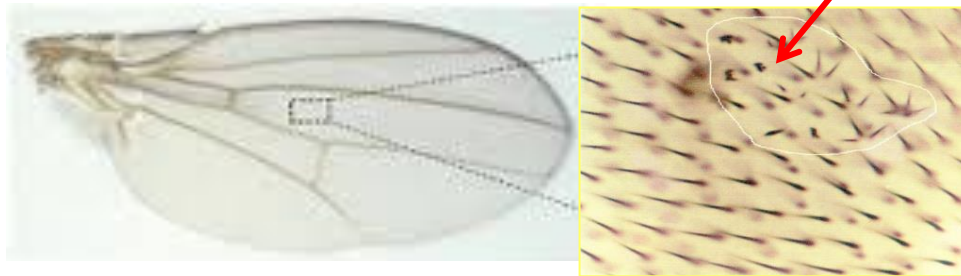




Amplificación en el número de células



Pelos mutantes



Pelos regulares de las alas

Durante el desarrollo larvario las células que forman las alas de las moscas se multiplican. Si durante el crecimiento algún factor modifica la información genética de estas células, entonces pelos muy pequeños que se encuentran en las alas cambian de aspecto, lo que indica que ha ocurrido una mutación.

Resultados

Biomarcadores:

Toxicidad:

Índice de Supervivencia

Proporción sexual

Reprotoxicidad:

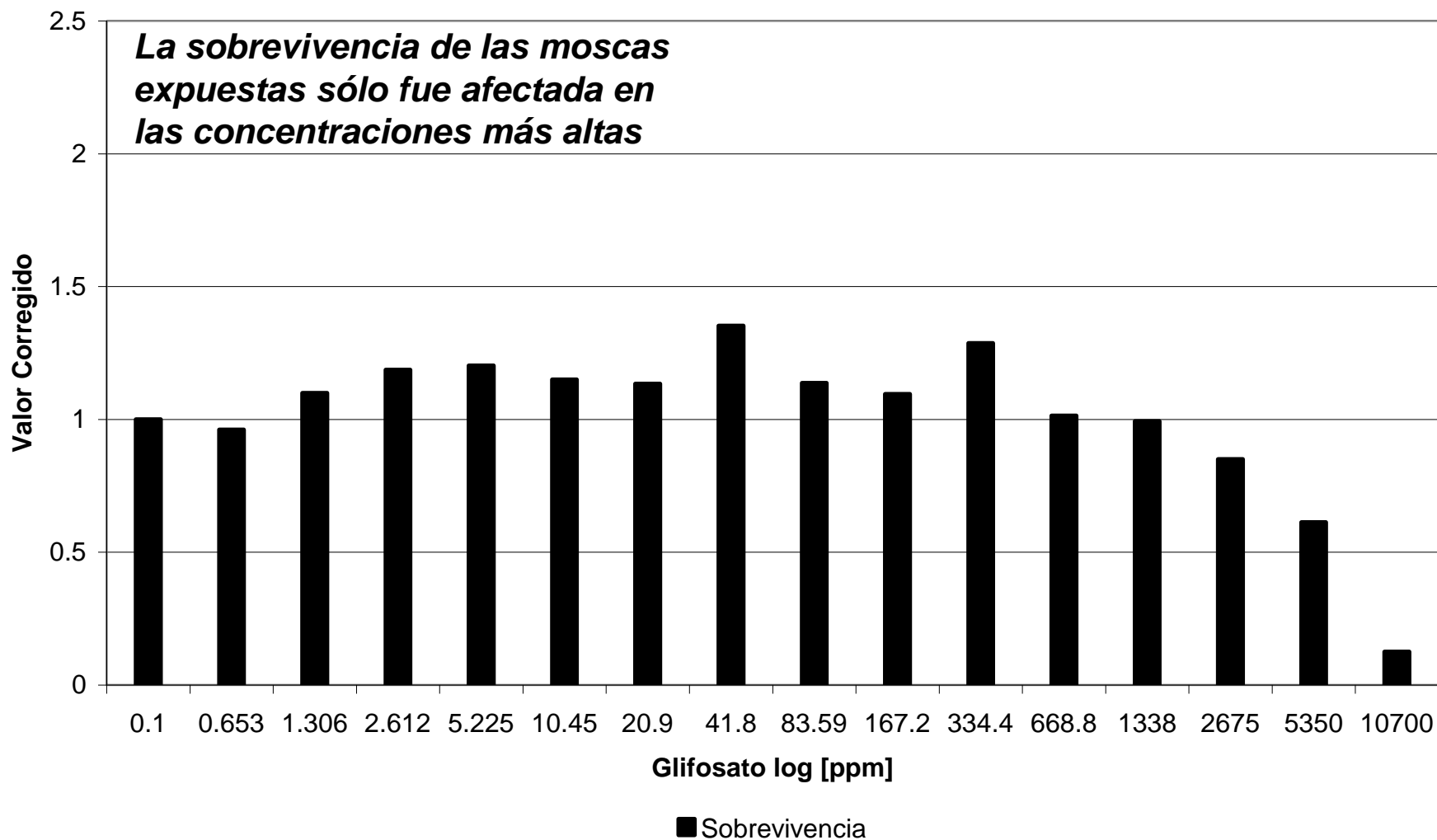
Fertilidad

Progenie promedio por macho tratado

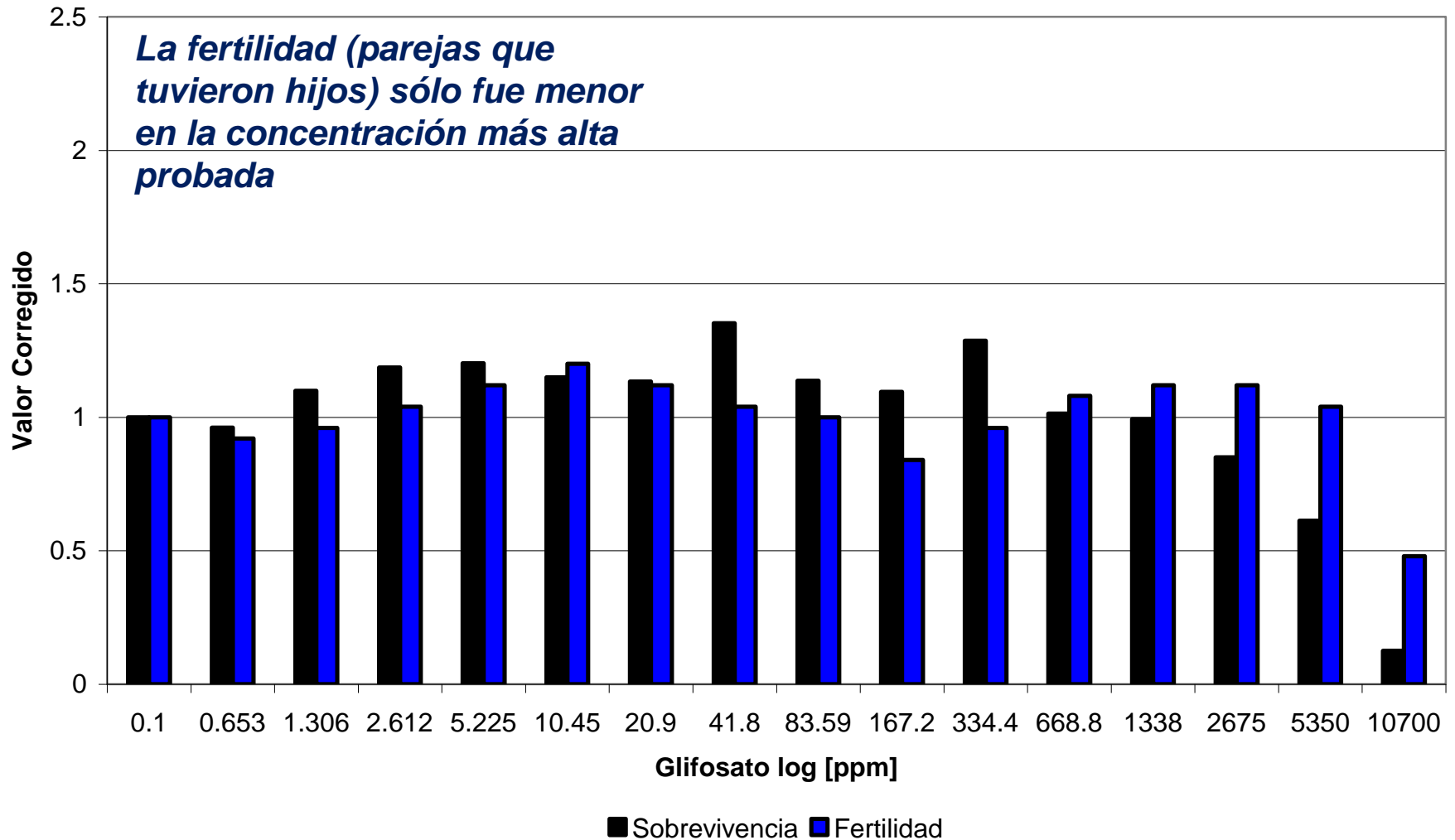
Genotoxicidad:

Frecuencia de mutación somática y recombinación mitótica

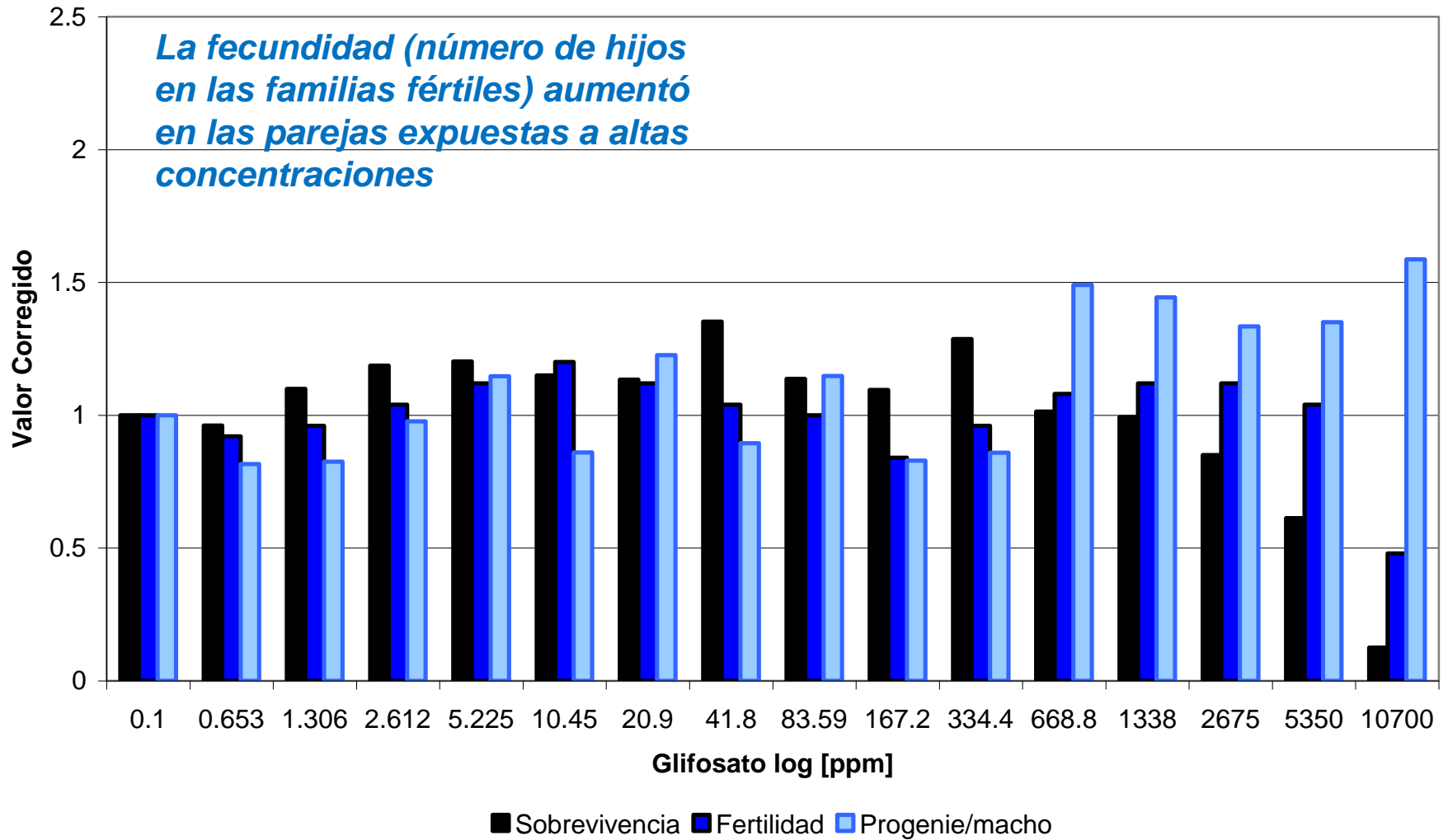
Efecto tóxico, reprotóxico y genotóxico del glifosato en *D. melanogaster*. Valores corregidos.



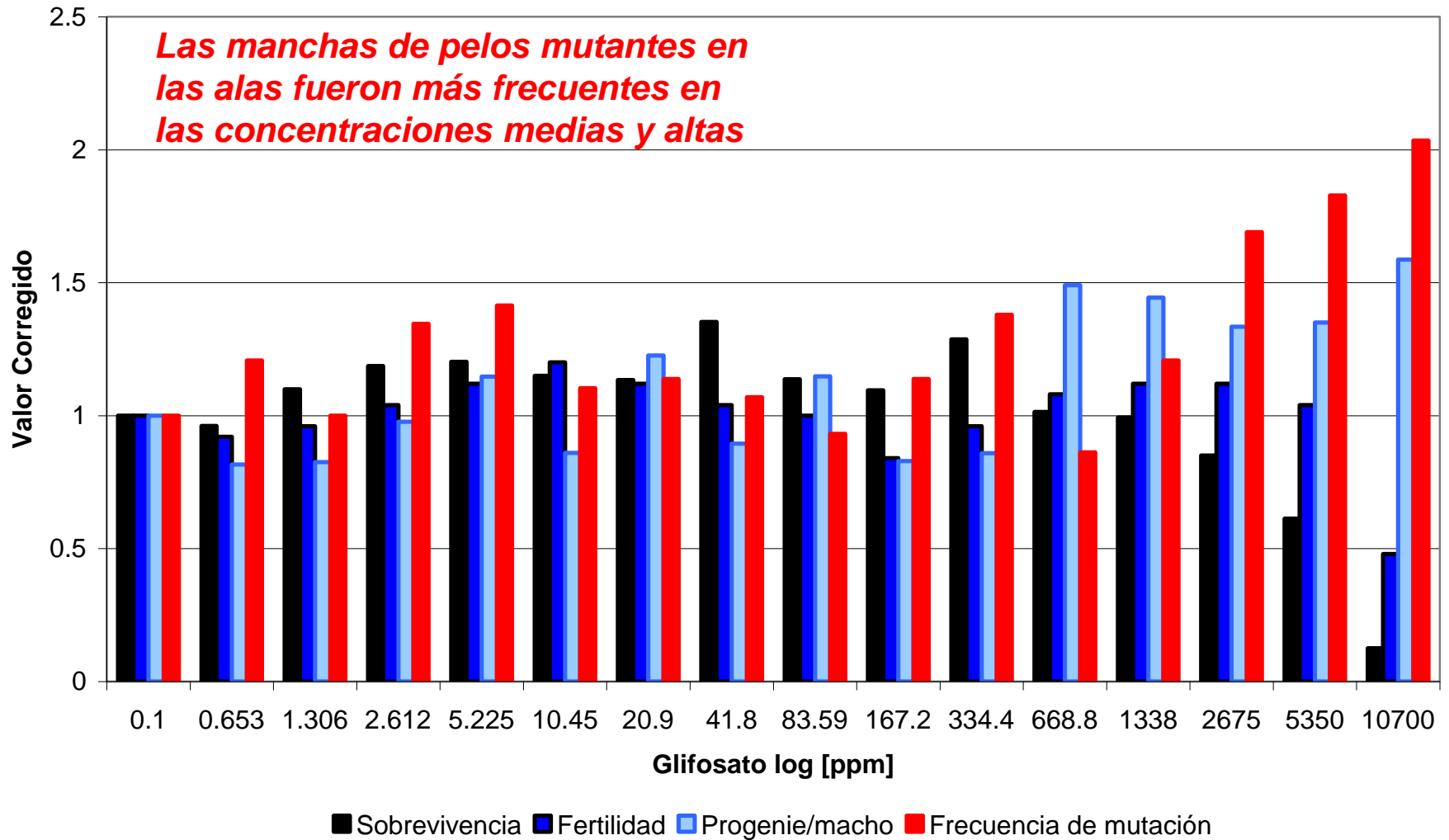
Efecto tóxico, reprotóxico y genotóxico del glifosato en *D. melanogaster*. Valores corregidos.



Efecto tóxico, reprotóxico y genotóxico del glifosato en *D. melanogaster*. Valores corregidos.



Efecto tóxico, reprotóxico y genotóxico del glifosato en *D. melanogaster*. Valores corregidos.





El glifosato sí afectó la sobrevivencia de las moscas expuestas, disminuyó su fertilidad y estimuló la fecundidad de los organismos que soportaron la exposición al herbicida. Aunque la frecuencia de manchas con pelos mutantes aumentó solo en las concentraciones medias y altas, es importante considerar que en las concentraciones más altas se perdió aproximadamente al 90 % de las moscas tratadas.

Differential Effects of Glyphosate and Roundup on Human Placental Cells and Aromatase

Sophie Richard, Safa Moslemi, Herbert Sipahutar, Nora Benachour, and Gilles-Eric Seralini

Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, USC-IN CRA, Université de Caen, Caen, France

Roundup is a glyphosate-based herbicide used worldwide, including on most genetically modified plants that have been designed to tolerate it. Its residues may thus enter the food chain, and glyphosate is found as a contaminant in rivers. Some agricultural workers using glyphosate have pregnancy problems, but its mechanism of action in mammals is questioned. Here we show that glyphosate is toxic to human placental JEG3 cells within 18 hr with concentrations lower than those found with agricultural use, and this effect increases with concentration and time or in the presence of Roundup adjuvants. Surprisingly, Roundup is always more toxic than its active ingredient. We tested the effects of glyphosate and Roundup at lower nontoxic concentrations on aromatase, the enzyme responsible for estrogen synthesis. The glyphosate-based herbicide disrupts aromatase activity and mRNA levels and interacts with the active site of the purified enzyme, but the effects of glyphosate are facilitated by the Roundup formulation in microsomes or in cell culture. We conclude that endocrine and toxic effects of Roundup, not just glyphosate, can be observed in mammals. We suggest that the presence of Roundup adjuvants enhances glyphosate bioavailability and/or bioaccumulation. *Key words:* adjuvants, aromatase, endocrine disruption, glyphosate, herbicide, human JEG3 cells, placenta, reductase, Roundup, xenobiotic. *Environ Health Perspect* 113:716–720 (2005). doi:10.1289/ehp.7728 available via <http://dx.doi.org/> [Online 25 February 2005]

(Saint Quentin Fallavier, France), and the pesticide Roundup (containing 360 g/L acid glyphosate; Monsanto, Anvers, Belgium) was from a commercial source. A 2% solution of Roundup and an equivalent solution of glyphosate were prepared in Eagle's modified minimum essential medium (EMEM; Abcys, Paris, France), and the pH of glyphosate solution was adjusted to the pH of the 2% Roundup solution (~ pH 5.8). Successive dilutions were then obtained with serum-free EMEM. 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) was obtained from Sigma-Aldrich. It was prepared as a 5-mg/mL stock solution in phosphate-buffered saline, filtered through a 0.22- μ m filter before use, and diluted to 1 mg/mL in serum-free EMEM. The polyclonal rabbit antibody directed against estrone (E₁) was purchased from PARIS company (Compiègne.

Gradualmente, se acumula información de la toxicidad del glifosato para los seres humanos en diferentes niveles, por ejemplo, se ha detectado su presencia en células de la placenta (que nutre al embrión durante su formación).

Research | Article

Differential Effects of Glyphosate and Roundup on Human Placental Cells and Aromatase

Sophie Richard, Safa Moslemi, Herbert Sipahutar, Nora Benachour, and Gilles-Eric Seralini

Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, USC-IN CRA, Université de Caen, Caen, France

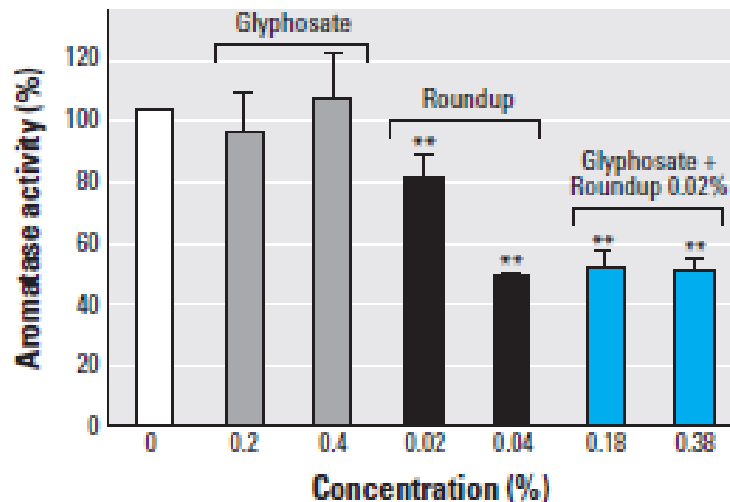


Figure 4. Combined effects of glyphosate and minute levels of Roundup on JEG3 aromatase activity in serum-free medium ($n = 9$). It was obtained at non-toxic concentrations after 18 hr exposure.

** $p < 0.01$.

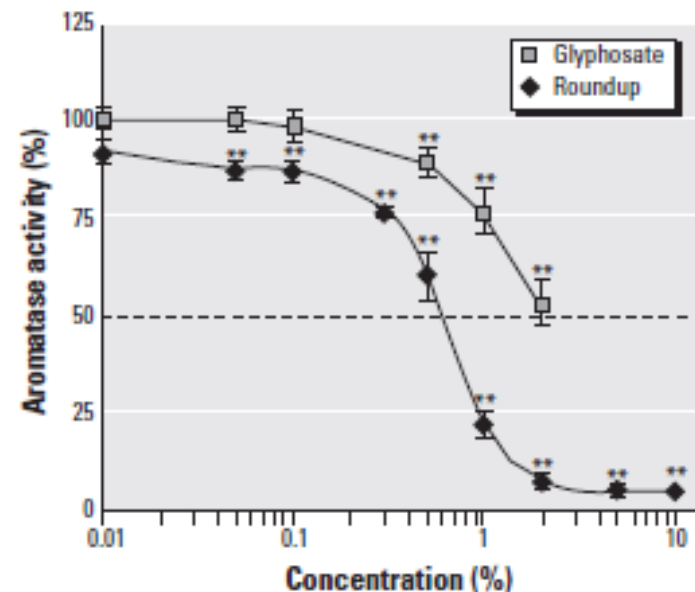


Figure 5. Effects of Roundup and equivalent quantities of glyphosate on microsomal aromatase activity. Human placental microsomes were incubated with Roundup or glyphosate at 37°C for 15 min ($n = 9$). The IC_{50} is indicated by a dashed line. Similar results were obtained with equine testicular microsomes. Error bars indicate SE.

** $p < 0.01$.



¡Gracias por su atención!