

1. DATOS GENERALES DEL PROYECTO

<b>Código:</b>	CIVABI-010313
<b>Centro de Investigación:</b>	Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad
<b>Programa:</b>	BIOTECNOLOGÍA Y RECURSOS GENÉTICOS
<b>Título del Proyecto:</b>	ALTERACIONES CROMOSÓMICAS EN TRABAJADORES EXPUESTOS A MUTÁGENOS QUÍMICOS
<b>Grupo de Investigación:</b>	Biodiversidad y Recursos Genéticos
<b>Area de Conocimiento:</b>	Ciencias de la Vida
<b>Línea de Investigación:</b>	Biodiversidad y Recursos Genéticos
<b>Tipo de Investigación:</b>	Aplicada
<b>Campo :</b>	Otro
<b>Investigador Principal :</b>	GERMANIA MARGARITA KAROLYS GUTIERREZ
<b>Proyectos Vinculados :</b>	
<b>Duración del Proyecto :</b>	12 Meses
<b>Localización del Proyecto :</b>	Laboratorios del Centro de Investigación de la Valoración de la Biodiversidad. UPS Sede El Girón.
<b>Fecha de ingreso :</b>	30/09/2013 12:53

## 2. ANTECEDENTES

Las investigaciones relacionadas con el tema de la genotoxicidad adquieren cada día mayor importancia a nivel mundial, debido al creciente deterioro del ambiente al que se encuentra expuesto el hombre moderno. En la actualidad se registran más de 6 millones de sustancias químicas mutagénicas, muchas de las cuales son utilizadas en los laboratorios de enseñanza e investigación.

Es conocido por la comunidad científica que la introducción en el mercado de un gran número de nuevos productos ha tenido una doble consecuencia en nuestro entorno. Aunque muchos de estos compuestos han contribuido a mejorar la calidad de vida, otros están relacionados con determinados riesgos por su toxicidad.

A nivel mundial la Organización Internacional del Trabajo (OIT) estima que de los 2 millones de muertes laborales que tienen lugar cada año en el mundo, 440.000 se producen como resultado de la exposición del trabajador a agentes químicos. Se considera que en torno a un 10 por ciento de las muertes por cáncer se deben a exposiciones laborales.

## 3. JUSTIFICACIÓN

En los centros de enseñanza e investigación se usan muchos productos que pueden provocar efectos genotóxicos con poco o nulo control, así el desconocimiento de las sustancias que se utilizan en los laboratorios, los datos incompletos sobre sus efectos tóxicos, la falta de información y formación, la ausencia de evaluaciones de riesgo y de fichas de datos de seguridad, la mezcla de productos, el exceso de confianza en la manipulación de productos, las malas prácticas de laboratorio, la ausencia de planes de recogida de residuos, etc., dificultan la prevención y propician la aparición de cuadros de intoxicaciones laborales y daños a la salud.

La evaluación preventiva de la salud de los trabajadores expuestos a agentes químicos mediante pruebas de genotoxicidad pondrán en evidencian alteraciones causadas al material genético, de manera directa o indirecta por agentes químicos.

La evaluación del daño cromosómico en el personal de laboratorio debe ser pauta para incorporar medidas de prevención de riesgos, a la lucha contra los accidentes laborales y de esta manera diseñar estrategias de prevención y control.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Determinar y caracterizar las alteraciones cromosómicas en personal de laboratorios de enseñanza e investigación expuesto a mutágenos químicos.

### 4.2 Objetivos Especificos

1. Identificar la población que labora con agentes químicos en las universidades y centros de investigación de la ciudad de Quito.
2. Identificar los factores de riesgo sobre la producción de daños cromosómicos en la población expuesta a los agentes genotóxicos
3. Determinar las alteraciones cromosómicas en los trabajadores de laboratorios de docencia e investigación.
4. Efectuar un seguimiento a pacientes que presenten aberraciones cromosómicas.

## 5. ESTADO DEL ARTE

El creciente avance de la industrialización ha producido cambios en los diversos ambientes de trabajo. Se estima que existen en el mundo más de 70.000 sustancias químicas y que aparecen alrededor de 1.000 sustancias nuevas anualmente. La exposición a estos compuestos, ya sea durante su formulación, producción o utilización puede tener en algunos casos efectos adversos en la salud de los trabajadores. Estos efectos no tienen por qué estar relacionados con lesiones inmediatas y aparentes, sino que pueden tardar incluso años en manifestarse.

Algunas de estas sustancias pueden ser genéticamente activas, siendo capaces de interactuar con el material genético (ADN). A las sustancias que pueden provocar algún tipo de modificación en la información genética se las denomina genotóxicas. Es bien conocida la relación entre la exposición a sustancias genotóxicas, ya sea de forma ocupacional, accidental o por estilos de vida (hábitos), y el incremento del riesgo de padecer un cáncer.

El control biológico es una metodología especialmente interesante para la evaluación de la exposición a

agentes potencialmente. Existen muchos ensayos para evaluar el daño frente a la exposición de agentes cancerígenos, entre todos ellos podemos citar, las técnicas citogenéticas, que permiten detectar lesiones en los cromosomas de linfocitos de sangre periférica y han mostrado ser una eficaz herramienta en los programas de control biológico de trabajadores expuestos a sustancias genotóxicas.

La mutagénesis ambiental o genética toxicológica es una disciplina que tiene como objetivo estudiar las mutaciones inducidas por agentes físicos, químicos y biológicos, identificar estos agentes, analizar sus interacciones y mecanismos de acción (Paz-y-Miño, 2001). Los estudios de toxicología genética enfocan su atención en niveles de exposición que no se consideran tóxicos, porque no causan efectos inmediatos identificables fácilmente, pero que tienen su efecto sobre el ADN. En 1983 la Comisión internacional para la protección contra mutágenos y carcinógenos ambientales estableció una definición que limita al término genotóxico a aquellos que causan daño al material genético a dosis subtóxicas (ICPEMC, 1983).

A nivel mundial los países europeos han venido desarrollando estudios y leyes en cuanto al manejo de agentes genotóxicos es así como el Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales junto con el Instituto Nacional de seguridad e higiene en el trabajo de España han realizado varios trabajos relacionados con el control biológico de daños producidos por agentes mutagénicos, en el documento NTP 192, ellos buscan establecer el interés, posibilidades y significado que suponen una serie de métodos en control biológico de trabajadores expuestos a sustancias genotóxicas, realizando estudios que proporcionen cualquier tipo de información que pueda suponer una mejora en la prevención y el control de exposiciones genotóxicas y en el documento NPT 354, se comentan 2 de los ensayos citógenéticos -Aberraciones Cromosómicas e intercambio de Cromátidas Hermanas- más empleados para el control biológico de poblaciones ocupacionalmente expuestas a agentes genotóxicos e indican las bases acerca de los mecanismos de formación de las lesiones en los cromosomas y la aplicación de estas dos técnicas citogenéticas, así como lo que se conoce acerca de su significación biológica.

Estudios realizados en Costa Rica por Morales (1997), indican que los trabajadores de la industria están expuestos al menos a 30 sustancias clasificadas por la IARC como del tipo A1 (carcinógeno humano comprobado), A2 (carcinógeno humano potencial) y A3 (carcinógeno animal comprobado).

En Ecuador, la mayoría de estudios se han enfocado al área petrolera y al de agricultores expuestos a pesticidas, Luis Vásquez del Instituto de Seguridad y Salud, Universidad San Francisco de Quito en su estudio realizado en trabajadores expuestos a hidrocarburos determinó la relación existente entre exposición y alteración expresadas en aberraciones e inestabilidad cromosómica en una muestra representativa de trabajadores expuestos en una refinería de petróleo en Ecuador. Por otro lado Paz y Mino (2000) realiza un monitoreo citogenético en población ecuatoriana expuesta ocupacionalmente a pesticidas, revelando que la población de individuos expuestos muestra un aumento en la fragilidad cromosómica en relación a la población control. En Ecuador no existen monitoreos de aberraciones cromosómicas en personal de laboratorios.

## 6. METODOLOGÍA

Después de las charlas informativas a trabajadores, se realizará una entrevista a cada uno de ellos donde se evaluará el tipo de químico y tiempo al que han estado expuestos, tipo de protección y antecedentes personales que pueden incidir en los resultados. Además previo a la toma de la muestra se le dará instrucciones a cada trabajador que no consuma bebidas con cafeína o té, durante una semana.

La metodología para la obtención del cariotipo del paciente se realiza a partir del cultivo de linfocitos usando 1-5 ml de sangre periférica heparinizada. En ambiente estéril, se siembran aproximadamente 0,5 ml de sangre en medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con 20% de suero bovino fetal y 0,05 ml de fitohemaglutinina y luego se incuba por 72 horas a 37°C. Una vez que el cultivo ha alcanzado el crecimiento adecuado, se detiene el ciclo celular en metafase al impedir la formación del huso mitótico con la adición de colchicina. Posteriormente, las células son sometidas a un shock hipotónico con KCl (0,075 M) y fijadas en metanol-ácido acético (3:1). El pellet celular resultante de este proceso es goteado sobre cinco portaobjetos limpios por caso. Para el análisis microscópico las muestras son teñidas con método de bandeado G de rutina.

Para el estudio de fragilidad cromosómica se utilizará Aphidicolina, la cual actúa inhibiendo la ADN polimerasa, permitiendo la expresión de sitios frágiles raros (heredados). Se utilizará medio de cultivo RPMI 1640 y las muestras se cultivarán por 72 horas a 37°C, le agregará 0,05 ml de Aphidicolina incubándose a 37°C por 26 horas; procediéndose posteriormente a la cosecha según pautas internacionales establecidas (. Luego de obtenidas las metafases se guardaron en horno seco a 60°C por 24 horas y se realizaron bandas G utilizando el colorante de Wright.

Se utiliza microscopio óptico para el conteo y el análisis cromosómico de un mínimo de 35 mitosis por caso (50 a 100 mitosis en aquellos con sospecha de mosaico cromosómico). Se fotografían las cuatro mejores metafases analizadas para posteriormente ampliarlas con el fin de recortar los cromosomas y armar el cariotipo de cada una de ellas, empleando la nomenclatura del sistema internacional ISCN.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Bonassi, S. & W.W. Au. 2002. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutat. Res.* 511: 73-86.
- Dewald GW, Buckley DD, Spurbek JL, Jalal SM. 1992. Cytogenetic guidelines for fragile X studies tested in routine practice. *Am J Med Genet*; 44: 816-821.
- ICPEMC, 1983 Screening strategy for chemicals that are potential germ-cell mutagens in mammals. *Mutat.*
- NTP 354 Y 192. Instituto Nacional de seguridad e higiene en el trabajo de España. Consulta en línea a: [www.insht.es/inshfweb/Contenidos/Documentación/.../ntp\\_354.pdf](http://www.insht.es/inshfweb/Contenidos/Documentación/.../ntp_354.pdf) . 23 marzo 2013.
- Mitelman F. 1995. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature ISCN. Karger Editores. 1º Ed.
- Morales, R.A. 1997. Sustancias Químicas cancerígenas en el sector industrial de Costa Rica: el uso de registros como herramientas de Salud Pública. *Rev. Costarric. Salud Pública.*
- Paz-y- Miño. 2000. Monitoreo citogenético en población ecuatoriana expuesta ocupacionalmente a pesticidas. *Revista de la facultad de ciencias médicas Quito.* Vol. 25. Pag 15-21.
- Paz-y-Miño, C., Creus, A., et all. 2001. Genotoxicidad, mutagénesis y cancerinogénesis. Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito.

## 8. RESULTADOS ESPERADOS

Los resultados seguramente nos indicarán que los trabajadores de los laboratorios de enseñanza e investigación expuestos sin protección ni medidas de seguridad a mezclas de mutágenos químicos, tendrán mayor riesgo genotóxico, presentando una elevada frecuencia aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica. Así mismo, la presencia de aberraciones cromosómicas, podrían estar asociadas con efecto carcinogénico, teniendo mayor probabilidad de que las mutaciones encontradas al momento del estudio, puedan volverse irreversibles por la saturación de los sistemas de reparación del DNA y en el futuro desarrollar diversos tipos de cáncer.

Los hallazgos en el estudio serán indicativos de la necesidad de realizar biomonitorización permanente de trabajadores expuestos a mutágenos químicos y creara la necesidad de implementar pautas generales para minimizar o prevenir la exposición

## 9. TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA Y/O SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN

Actualmente se considera que las aberraciones cromosómicas son muy útiles, porque después de monitorear las personas expuestas, se les podría dar períodos mayores de descanso a aquellas más susceptibles de sufrir daño genético a esa exposición determinada, o se les podría cambiar de actividad dentro de sus trabajos. Con las metodologías citogenéticas, moleculares y bioquímicas que existen actualmente, es posible detectar cambios o alteraciones que servirían como señal de alarma y entonces tomar las medidas oportunas para minimizar el riesgo para la salud (Bonassi y Au 2002).

## 10. IMPACTOS DEL PROYECTO

A pesar de que las técnicas de citogenética convencional cuentan con casi medio siglo de existencia, su interés no es sólo histórico, sino que siguen proporcionando valiosa información clínica. El análisis de las aberraciones cromosómicas en personal de laboratorio expuesto a agentes químicos mutagénicos permitirá a científicos, docentes y estudiantes a tomar conciencia del riesgo que implica trabajar con este tipo de sustancias y a plantear soluciones a corto y largo plazo.

Tecnológico - Ambiental:

El monitoreo de población expuesta a agentes potencialmente dañinos para el ser humano es una herramienta valiosa en salud pública y ocupacional. Tiene como objetivo preservar la salud y la calidad de vida en aquellos grupos de trabajadores que son de alto riesgo por la naturaleza de las sustancias que están expuestos.

## 11. INFORMACIÓN DE COFINANCIADORES (en caso de que existieran)

