



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
I Z T A C A L A**

**FRECUENCIA DEL INTERCAMBIO DE CROMATIDES
HERMANAS (ICH) PRODUCIDOS POR EL BRANDY
Y EL TEQUILA EN CULTIVOS DE LINFOCITOS
TRATADOS IN VITRO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O

P R E S E N T A
VICTOR GONZALEZ BERNAL

MEXICO, D. F.

JULIO 1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**FRECUENCIA DEL INTERCAMBIO
DE CROMATIDES HERMANAS
(ICH) PRODUCIDOS POR EL
BRANDY Y EL TEQUILA EN
CULTIVOS DE LINFOCITOS
TRATADOS IN VITRO.**

INDICE

	Pág.
I INTRODUCCION.....	1
-El Alcoholismo en México.....	2
-Aspectos económicos.....	5
-Aspectos sociales.....	7
-Elaboración de bebidas.....	7
-Absorción y metabolismo.....	9
II ANTECEDENTES	
-El alcoholismo como enfermedad.....	12
-Alcoholismo y alteraciones clínicas.....	13
-Alcoholismo y mutagénesis.....	16
III OBJETIVOS.....	23
IV MATERIAL Y METODO.....	25
V RESULTADOS.....	31
VI ANALISIS DE RESULTADOS.....	37
VII CONCLUSIONES.....	40
VIII BIBLIOGRAFIA.....	48

A MIS PADRES, RAFAEL Y AURORA:

Por su paciencia, apoyo y aliento para terminar esta etapa en mi vida profesional, por su amor para seguir adelante el resto de mi vida física.

A MI HERMANO, ANTONIO:

Por su ejemplo como profesional, para continuar adelante hacia nuestras metas; y por su complicidad fraternal en todo momento, para continuar unidos siempre, hasta el fin.

A MIS AMIGOS:

Para que siempre continuemos en busca de nuestros ideales estudiantiles apoyándonos en ese lazo que se llama amistad.

AGRADECIMIENTO:

Agradezco a las personas que laboran en el laboratorio de Genética Humana de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (E.N.C.B.), del IPN por su ayuda para la elaboración del presente trabajo: al Dr. Eduardo Madrigal Bujaidar y a la Maestra Cassani.

Doy las gracias, especialmente, al M. en C. Arturo Piña Calva, por su ayuda y asesoramiento en la realización de mi trabajo de tesis; y quién además de ser un excelente Biólogo, es un magnifico amigo y una gran persona.

Gracias también a la Bióloga Guadalupe González y al Biólogo Raúl Quezáda, por su amistad y los momentos de amena charla.

IN MEMORIAM:

Para mis tíos: Juan, Francisco y Sergio, y para mi primo Raul, quienes no podrán leer este trabajo, pero que, estoy seguro, lo hubiesen disfrutado.

Para mi tío Rogelio Romero, con quién pase excelentes momentos infantiles y de adulto, los cuales recordaré siempre, y con quien me siento en deuda por terminar tan tardamente esta tesis.

" La experiencia más decisiva para el hombre a lo largo de toda su historia ha sido el paso de fronteras... Hoy se encuentra al borde de una nueva frontera, tal vez la más desafiante de todas. Esta nueva frontera se halla en los confines de la genética, una ciencia envuelta todavía en un halo de misterio para la mayoría de la gente."

**De " EL MISTERIO DE LA HERENCIA "
de John J. Fried**

INTRODUCCION

El consumo de alcohol ha sido (y sigue siéndolo) motivo de preocupación, pues ha alcanzado proporciones realmente alarmantes. Se considera que en México existe alrededor de seis millones de bebedores excesivos, de los cuales el 25% son considerados como enfermos alcohólicos. (11)

Los daños que ocasiona la ingesta immoderada afectan al individuo y a la sociedad en su conjunto. Estos incluyen aspectos de salud física y mental, de relaciones familiares, económicas y laborales. Por lo anterior la finalidad de la presente introducción es que el lector tenga un panorama general de estos aspectos, así como de los procesos de elaboración de las bebidas utilizadas en el presente trabajo y de la forma en que se absorben y metabolizan los mismo.

EL ALCOHOLISMO EN MEXICO.

Independiente de las motivaciones que inducen al consumo de alcohol, esto puede ocasionar la enfermedad conocida como: Síndrome de Dependencia Alcohólica (comunmente llamada alcoholismo), la cual se ha venido extendiendo ampliamente en nuestra sociedad alcanzando no solo a la población adulta, sino también a la juvenil. Tanto de las grandes ciudades como del medio rural.

Las primeras manifestaciones de alcoholismo en México no son conocidas con exactitud. Diversos investigadores las sitúan en diferentes períodos de las culturas prehispánicas. Fernando de Alva Ixtlilochitl señala que, quizá este fenómeno hizo su aparición unas décadas antes de la destrucción de la ciudad de Tula, a finales del primer milenio de nuestra era. Estas culturas bebían pulque (octli en Nahuatl), bebida fermentada obtenida del maguey. Sobre el origen de ésta se menciona una gran cantidad de leyendas.

Por otra parte, dentro de la cultura Tolteca se considera que fue Papantzin el primero en conocer la forma de obtener el agua miel y sus derivados. Para los Mexicas, la obtención y arte de producirlo se entrelaza con una leyenda que menciona a la diosa Mayahuel (mujer de los 400 senos) como la encargada de sacar por primera vez el aguamiel del maguey. (3)

El códice Bouturini explica que las culturas indígenas habitantes de la altiplanicie mexicana, conocían el pulque desde la antigüedad. Este hecho puede considerarse válido, debido a los hallazgos arqueológicos obtenidos por la Dra. Jacobs M. y por el Profr. César Lizardi R., ellos descubrieron implementos para beneficiar el maguey, con una antigüedad de 16 ó 19 siglos antes de el descubrimiento hecho por Papantzin. (12,78)

Independientemente del origen del pulque, este hallazgo repercutió en los hábitos de los pueblos que consumían. En un principio contaron con una bebida que mitigaba el hambre y la sed en sus recorridos por las tierras áridas. Posteriormente, el consumo adquirió características rituales mágico-religiosas, sobre todo cuando celebran aquellas manifestaciones relacionadas con los ciclos de vida: nacimientos, pubertad, matrimonio y muerte. (81)

Aunado a lo anterior, se instituyeron leyes que restringieron el consumo del pulque. Quién ingiriera esta bebida fuera de aquellas celebraciones se le consideraba un criminal y todas las clases sociales despreciaban a estos individuos.

La trasgresión a dichas normas ocasionaba que los encargados de sancionar estos delitos, tuvieran que emplear diversos castigos. Así, los borrachos eran azotados y muertos a palos, o bien, les rapaban la cabeza y se les encarcelaba, derribaban su casa y no se les permitía tener cargos públicos. Estas sanciones se aplicaban tanto al mancebo del calmecac, como a mujeres y sacerdotes que se embriagaban. Las penas eran

incomutables y de acuerdo a la posición del infractor. Sin embargo, existían excepciones: según los escritos de Fray Bernardino de Sahagún y Fray Juan de Torquemada, a los ancianos y ancianas de más de 50 años, se les permitía beber en forma muy discreta. También podían hacerlo aquellos que fueran a morir pronto.

Cuando los pueblos mesoamericanos fueron derrotados, el pulque pasó a ser la bebida de los vencidos y las leyes severas que restringían su consumo fueron abatidas. Esto provocó que la ingesta inmoderada se extendiera por toda la Nueva España, se dió un cambio radical en el patrón de ingesta de la población indígena: de una forma moderada en celebraciones mágico-religiosas, pasó a ser más profana, en grandes cantidades y sin límite de edad y sexo. (80,89)

A todo esto se sumó la enseñanza del cultivo de la vid y la elaboración de vinos y licores de la uva por los españoles. Así tenemos que en 1524, Cortés dispuso que cada encomendero sembrara mil sarmientos por cada 100 indios a su cargo.

La Colonia fue el periodo en donde el consumo de etanol tuvo un aumento y serias repercusiones. Los encomenderos y otros españoles daban a los indígenas bebidas alcohólicas como trueque por su trabajo y para mantenerlos sometidos.

El notorio incremento del alcoholismo en estas condiciones motivó a la implantación de diversos preceptos para su control. Entre estos se tiene el promulgado por Carlos V (1529), en donde se prohibía agregar raíces, agua hirviendo y cal al pulque. Felipe II, rey de España y Portugal (1594), ordenó que a los lugares y pueblos donde habitasen los indios no entrara el vino ni se les vendiera, por el grave daño que producía a su salud.

Así, hasta nuestros días, se han dado una serie de leyes y medidas tendientes a disminuir y regular o eliminar el consumo de alcohol. Benito Juárez expide diversas normas de carácter administrativo destinadas a fijar condiciones para el funcionamiento de cantinas y pulquerías; impuestos, licencias y otros requerimientos, pero no se implantan disposiciones especiales para combatir el alcoholismo. Durante el periodo revolucionario se implantan

medidas entre las que destacan la ley seca de 1925, la cual, sin embargo, no resolvió el problema.

Años más tarde, diversos presidentes realizan esfuerzos para controlar el fenómeno : Pascual Ortiz Rubio, en 1932, emprende una campaña antialcohólica; Manuel Avila Camacho convoca en 1943, a una asamblea contra el vicio y a finales de 1981, José López P. crea el Consejo Nacional Antialcohólico. No obstante estos esfuerzos, el panorama no ha cambiado; el problema del alcoholismo sigue vigente debido, entre otras cosas, a los grandes intereses económicos que están en juego y que favorecen el consumo a través de enormes campañas publicitarias. (81,73)

ASPECTOS ECONOMICOS

En relación al desarrollo de la industria productora de bebidas alcohólicas, la historia de México señala que fue Agustín de Iturbide quien le dió un gran impulso a ésta, al gravar con aranceles del 35% a los vinos traídos del exterior y disminuyendo los impuestos de los nacionales. Antonio López de Santa Anna y Porfirio Díaz estimularon el cultivo de la vid, en momentos que el mercado nacional se veía invadido por los vinos procedentes de España.

Sin embargo, existió un periodo en el cual la producción y consumo de vino se limitó enormemente. A este corresponden las luchas conflictivas internas durante el siglo XIX, en especial durante las leyes de Reforma y la contienda contra los Estados Unidos de Norteamérica, ocasionando que muy pocas regiones del país, como Baja California y Aguascalientes, mantuvieran el cultivo de la vid.

En este siglo, un hecho que estimuló el crecimiento en este sector fue la Segunda Guerra Mundial, pues hubo una disminución en la producción de los vinos Alemanes y Franceses y en consecuencia, un aumento en la producción nacional ya que diversas regiones se abrieron al cultivo de la vid, como las de San Juan del Rio y Tequisquiapan en Querétaro; Dolores Hidalgo y San Luis de la Paz en Guanajuato; y hacia el norte, Aguascalientes y

Zacatecas; así como en la comarca Lagunera comprendiendo a Gómez Palacio y Lerdo, con Parras y Paila hacia el este.

En las últimas dos décadas la elaboración de las bebidas alcohólicas ha tenido un gran desarrollo, destacando la producción de brandy y tequila.

En el caso particular del brandy podemos decir que este se elabora con uva, lo que le da preferencia en un gran sector de la población. Se estima que en la industria de los licores fuertes, derivados de uva o cualquier otra materia prima, es este licor el que ocupa el 50% en ventas.

En 1973 el mexicano consumía un promedio de 1.3 lt. de brandy per capita, calculándose que la cifra aumenta a 2.4 lt. por habitante al año.

Con respecto al tequila, el inicio de su comercialización data desde el siglo XVI, pero no es sino hasta el siguiente siglo que se establece formalmente una industria dedicada a la producción en gran escala, siendo elaborada precisamente en la región de la cual toma su nombre. La exportación de este producto ocurre cuando, en 1873, se envían seis botijas y tres barriles a los Estados Unidos de Norteamérica, los cuales fueron elaborados en la fábrica de mezcal "La Antigua Cruz", fundada por José María Castañeda y posteriormente adquirida por Cenobio Sauza en ese mismo año.

De esta forma, la industria tequilera del país pasó a ser altamente redituable en términos económicos. Es notable el incremento en las ventas, tanto de tequila como de mezcal, consideradas por mucho tiempo como empresas menores, ocupando así, un lugar importante en el mercado de bebidas alcohólicas.

Hoy día, existen alrededor de 270 establecimientos dedicados a la elaboración de tequila y mezcal; sin embargo, su participación en el valor de la producción de bebidas alcohólicas, se acerca apenas a un 10%. No obstante, se le estima como una industria floreciente gracias a una notoria mejoría en sus niveles de calidad, logrando con ello un mayor flujo de exportaciones a más países. (74,75,58,32)

ASPECTOS SOCIALES

Es inegable que el alcoholismo representa un grave problema ya que, además del daño físico que provoca en los individuos, origina serios problemas de índole social con graves implicaciones económicas.

Así por ejemplo, tenemos que se pierden alrededor de 160,000 hrs laborales por quincena. Es también el culpable del 12% del ausentismo en el trabajo y del 5% de los accidentes laborales, ocasionando con esto un déficit por 2,600 millones de pesos. El 2.8% los percances en las carreteras (1563 de los 55,994 ocurridos en 1980), fueron ocasionados por conductores en estado de ebriedad; en el mismo año, el 50% de las detenciones y homicidios se relacionaron con el abuso en el consumo de etanol.

Dentro del núcleo familiar, el 5% de los suicidios consumados y del 4 al 6% de los frustrados, tienen relación con la ingesta excesiva de etanol. El 84% de las desavenencias familiares, el 82% de divorcios y separaciones, son causados por las bebidas alcohólicas. Asimismo, en el 15% de los casos de niños maltratados, el padre golpeador tiene problemas con su forma de beber; finalmente, en el 45% de las violaciones, el agresor se encontraba bajo los efectos del alcohol. (32,51,77)

ELABORACION DE LAS BEBIDAS.

Las bebidas alcohólicas están formadas principalmente por agua y alcohol etílico, pudiendo estar este último en concentraciones que van de 3 a 50% aproximadamente. Además, están presentes otras sustancias que les confieren las características especiales de olor y sabor.

El alcohol etílico es un líquido incoloro y casi inodoro. Se produce mediante un proceso natural llamado fermentación, llevado a cabo por levaduras las cuales bajo determinadas temperaturas, convierten el azúcar de los frutos y granos en alcohol y CO₂.



Este proceso ha permitido que desde la antigüedad los hombres consuman bebidas fermentadas ricas en etanol.

También se pueden obtener bebidas con una concentración alta de alcohol a partir de la destilación. El brandy y el tequila son bebidas que se obtienen por destilación con un alto contenido de alcohol.

BRANDY.

Se denomina genéricamente brandy o coñac, al licor obtenido por el calentamiento y la evaporación del alcohol del vino blanco y su posterior envejecimiento en toneles de roble.

Este tipo de bebidas se produce en alambiques con calderas de una capacidad de 1000 lt.

El proceso principal es una sucesión repetida de evaporación y condensación de los elementos más altamente volátiles, los cuales al transformarse nuevamente en líquido, adquieren diferentes concentraciones o grados alcohólicos. De esta manera, el mejor brandy se recoge en el periodo central de la última destilación para, posteriormente, ser almacenado, (11)

TEQUILA.

Con respecto al tequila, podemos decir que se obtiene por la destilación del mosto (zumo) de agave. Para su elaboración se emplea la piña de la planta conocida como Agave tequilana, aunque se puede utilizar también: *A. potatorum* y en menor medida: *A. subtilis*, *A. longisepala*, *A. pesumbae* y *A. pseudotequilana*. (77)

El líquido rico en alcohol que se logra en los primeros procesos de elaboración, se somete a destilación en alambiques de olla dando como resultado un tequila con no más de 55 grados Gay-Lussac (G. L.), al cual se le conoce como aguardiente o "agua de vida".

Así, el tequila blanco se elabora al agregar agua al aguardiente (para ajustar la graduación comercial); el tequila reposado es el que se deja madurar en recipientes de madera de roble blanco o encino, por lo menos dos meses; en tanto que el tequila añejo para por un proceso de almacenamiento cuando menos de un año, también en el mismo tipo de recipientes. (57)

ABSORCION Y METABOLISMO.

El alcohol se absorbe en el intestino delgado en un 80% y el restante 20% en el estómago. Sin embargo, su absorción se puede retrasar por el consumo previo o simultáneo de alimentos grasos.

Su eliminación ocurre en diversos órganos y en diferentes porcentajes. El Hígado es el centro primordial ya que en él ocurre el 90% de ésta y el resto se realiza en órganos como el riñón, pulmón y piel.

El metabolismo hepático del etanol se da preferentemente a través de dos vías de oxidación: la Alcohol Deshidrogenasa y el Sistema Microsomal. (Fig. 1)

ALCOHOL DESHIDROGENASA (ADH)

Es la principal vía de oxidación. Se localiza en el citosol o fracción soluble de la célula. Para su funcionamiento requiere la presencia de Nicotín Adenín Dinucleótido ó NAD.

Etanol + NAD -----> Acetaldehído + NADH + H .

El acetaldehído producido es oxidado a acetato por el enzima: aldehído deshidrogenasa, localizada en la mitocondria. Este es enviado al torrente sanguíneo para su futura oxidación hasta Acetil CoA, CO₂ y agua.

SISTEMA MICROSOMAL DE OXIDACION DEL ETANOL (SMOE).

Se localiza en los microsomas del reticulo endoplasmático. Para su operación utiliza NADPH y oxígeno, y requiere de niveles altos de alcohol en sangre para contribuir, de manera notable, en su eliminación. Normalmente este sistema es inducible, no interviene de manera directa y esto, tal vez, explica la tolerancia al etanol por los alcohólicos. (19)

ANTECEDENTES

EL ALCOHOLISMO COMO ENFERMEDAD.

Actualmente el alcoholismo es considerado como una enfermedad, sin embargo el proporcionar una definición completa que explique detalladamente las características de ésta es un problema difícil de solucionar, ya que cada una de las existentes, responde a los intereses de las diversas disciplinas que la investigan.

Una de las definiciones que se da a este padecimiento, es la propuesta por Keller (1958) que dice: "el alcoholismo es una enfermedad crónica, un desorden de la conducta, caracterizada por la ingestión repetida de bebidas alcohólicas, hasta el punto en que excede a lo socialmente aceptado y que daña a la salud del bebedor, sus relaciones interpersonales o su capacidad para el trabajo, con una pérdida de control en cuanto a su consumo". (33)

Para fines clínicos, esta explicación se complementa con la clasificación que elaboró Jellinek (1960), para los bebedores de etanol. Este autor propone 5 niveles: Alcoholismo Alfa, Beta, Gamma, Delta y Epsilon. (56)

-Alcoholismo Alfa: Lo cataloga como una dependencia puramente psicológica, para alivio del dolor físico y emocional, no existiendo un proceso progresivo y controlado en cuanto a la ingestión de bebidas alcohólicas, siendo sus consecuencias básicamente sociales.

-Alcoholismo Beta: En este nivel hay complicaciones físicas, pero no existe una dependencia psicológica o corporal.

-Alcoholismo Gamma: El aumento progresivo a la dependencia del alcohol (física o psicológica) se suma a una tolerancia tisular, a una adaptación metabólica celular con síntomas de privación y ansia de bebida alcohólica y la pérdida del control de ingestión de éstas.

-Alcoholismo Delta: Es parecido al gamma. En lugar de pérdida de control se observa una forma más moderada en la ingesta que se interpreta como la incapacidad de abstenerse.

-Alcoholismo Epsilon: Es el alcoholismo periódico conocido como dipsomania.

Jellineck considera a los alcohólicos alfa y beta como consecuencia del exceso alcohólico; a los gamma y delta los cataloga como enfermedades por las características fisiopatológicas que presentan. Para la forma epsilon, por la falta de conocimientos suficientes, no se declara a considerarlo como enfermedad.

ALCOHOLISMO Y ALTERACIONES CLINICAS.

El consumo crónico de bebida alcohólicas afecta todo el organismo de la especie humana y en ocasiones a su descendencia. En particular podemos mencionar daños en la función reproductora y malformaciones en los hijos de madres alcohólicas. Además, se ha observado una estrecha relación entre la ingesta de etanol y la presencia de cáncer en distintos órganos y tejidos. (67,26,35)

En pacientes alcohólicos de sexo masculino, se presentan alteraciones hormonales como la hipoandrogenización y la hiperestrogenización, con una frecuencia que va del 20 al 90%. El primero de los trastornos provoca impotencia sexual y atrofia testicular, la cual puede ser variable, esta última, se manifiesta inicialmente a través de una disminución en la producción de espermatozoides, la cual puede evolucionar hasta la eliminación total de estos.

La segunda alteración determina la aparición de caracteres sexuales femeninos secundarios y, en ciertos casos, ginecomastia. También puede incrementar la

hipoandrogenización, ya sea por efectos directos en el testículo o por la interrupción de la secreción de gonadotropinas.

La disminución en la concentración de testosterona de estos individuos, permite explicar la impotencia sexual y el daño que ocurre en la célula germinales. Se sugiere que la oxidación del etanol provoca un cambio en la relación NAD/NADH en la célula de Leydig y de esta forma inhibe la producción de testosterona.

A diferencia con los bajos niveles de andrógenos en estos pacientes, las concentraciones plasmáticas de estrona se ven aumentadas de 2 a 3 veces en comparación con individuos clínicamente sanos, lo que se refleja en la presencia de caracteres femeninos secundarios. Esto se explica por el hecho de que el alcohol induce a la secreción adrenocortical de esteroides y de la hormona adenocorticotrópica (CATH), que a su vez, estimulan a las glándulas adrenales para producir estrógenos.

En algunos pacientes alcohólicos con hiperestrogenización existe una elevada concentración de prolactina (hiperprolactinemia), que podría actuar sinérgicamente para desarrollar ginecomastia.

En mujeres alcohólicas se puede presentar amenorrea, anormalidades menstruales, atrofia ovárica y esterilidad, no obstante aún no se dispone con la información suficiente para explicar estos fenómenos. (88,49,16)

Con respecto a los efectos del alcohol en la prole, desde los tiempos de Platón y Aristóteles se conocía que la ingesta de bebidas alcohólicas podía provocar malformaciones en la descendencia, pero es hasta 1973 en que se establece definitivamente que el etanol tiene propiedades teratogénicas. Al conjunto de estas alteraciones que presentan los hijos de madres alcohólicas se le conoce como: Síndrome Alcohólico Fetal (SAF). Este síndrome se presenta con una frecuencia del 40% y se caracteriza por diversos trastornos como: retraso en el crecimiento físico, microcefalia, malformaciones craneales y de extremidades superiores e inferiores, desórdenes cardíacos,

defectos urogenitales y disfunciones en el sistema nervioso central, así como de inteligencia subnormal e hiperactividad (estas últimas en mayor o menor grado. (41,54,40,72)

Se propone que la hipoxia fetal es la causante de estas alteraciones del desarrollo. En estos pacientes, durante el metabolismo del etanol hasta acetaldehído y acetato, el hígado incrementa el consumo de oxígeno en un 100%. Esto priva a otros tejidos de oxígeno que, al no ser compensado, provoca alteraciones y muerte celular. (25)

Con relación a la influencia del alcoholismo masculino en la progenie, aún no se dispone de la información suficiente que nos permita descartarlo o no. Ahora solo se dispone de algunos resultados en animales de laboratorio, los cuales sugieren que el alcoholismo paterno si puede afectar a la descendencia. (52)

Con respecto a la incidencia de cáncer en individuos alcohólicos se ha observado que este puede presentarse en boca, esófago, faringe, colon, recto, estómago e hígado.

Para explicar estos fenómenos se ha hecho alusión al acetaldehído y a algunos compuestos presentes en las bebidas alcohólicas.

También se ha propuesto que el etanol podría actuar como cocarcinógeno, resaltando la acción de otros carcinógenos como los que se encuentran en el humo del cigarro o en algunos alimentos. (60)

ALCOHOLISMO Y MUTAGENESIS.

Considerando que la ingesta de etanol está asociada a la presencia de cáncer en diversos órganos, en los últimos años se han realizado investigaciones para establecer las propiedades mutagénicas de este y del acetaldehído, así como de las bebidas alcohólicas y de algunas de las sustancias presentes en estas. (60,70)

Un enfoque de estudio es el citogenético, con el cual se determinan parámetros que nos permiten evaluar la genotoxicidad de diversas sustancias. Entre otros podemos mencionar: alteraciones cromosómicas, numéricas y estructurales; el intercambio de cromátides hermanas (ICH) y el tiempo de generación promedio (TPG). (53)

Taylor describe por primera vez el ICH en 1957 y es, como su nombre lo indica, un intercambio de segmentos simétricos y equivalentes entre las cromátides de un mismo cromosoma. Este fenómeno se incrementa significativamente por la interacción de diversos agentes genotóxicos con el material genético; en consecuencia, nos permite conocer las posibles propiedades mutagénicas de distintas sustancias a las que está expuesto el hombre. Para determinar la frecuencia de ICH es necesario hacer una tinción diferencial de las cromátides hermanas. Esto se logra mediante la sustitución de la timina por 5-Bromo-2-deoxiuridina (BrdU), cuando menos en el primero de tres ciclos de división celulares sucesivos. Una vez fijadas las células, se tiñen con el colorante fluorescente Hoechst 33258 y con Giemsa (Fig. 2). (65)

Para evaluar mutagenicidad, se pueden emplear distintos sistemas biológicos: individuos expuestos, animales de laboratorio y cultivos celulares. En el caso particular de estos últimos, es necesario considerar que algunas sustancias afectan al material hereditario a través de sus metabolitos, por tal razón es necesario agregar a los cultivos sistemas enzimáticos que metabolicen las sustancias que se están estudiando. Uno de los que se emplean con mayor frecuencia es el sistema microsomal S9, el cual se obtiene a partir del hígado de rata.

Falta página

N° 17

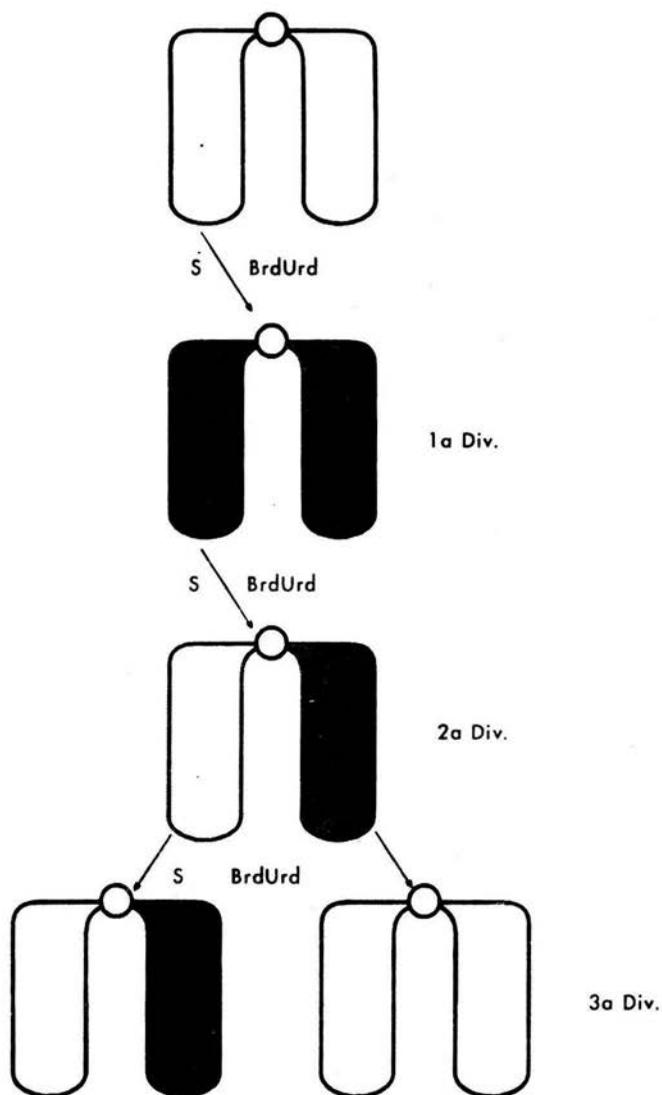


Fig. 2 Tinción Diferencial de las Cromátides Hermanas

Los conocimientos actuales en relación a genotoxicidad del etanol y bebidas alcohólicas muestran los siguientes resultados:

Pacientes alcohólicos con síndrome de dependencia alcohólica, presentan un aumento en el índice de ICH y en la frecuencia de alteraciones cromosómicas estructurales. (39)

Al determinar la frecuencia de intercambios y las aberraciones cromosómicas en mujeres alcohólicas y en sus hijos con Síndrome Alcohólico Fetal (SAF), se observa que estas presentan un incremento en los dos parámetros, sin embargo, los hijos no se ven afectados (Tabla: 1).

Estos resultados nos indican que la ingesta de etanol está asociada con alteraciones en el material hereditario de alcohólicos y son análogos a los obtenidos en animales de laboratorio, en donde también se observan alteraciones cromosómicas (numéricas y estructurales) y un aumento en la frecuencia de ICH. (14,64)

Se han realizado estudios *in vitro* con el objeto de establecer el papel que juega el etanol en la producción de daño cromosómico.

Algunos investigadores, empleando cultivos celulares y diferentes concentraciones de etanol, informan que no existen alteraciones en los cromosomas; sin embargo, otros aportan datos positivos. A pesar de la discrepancia de resultados, hay una tendencia a considerar que el etanol no tiene propiedades mutagénicas *in vitro* (Tabla: 2). (43)

Cuando se realizan cultivos con diferentes concentraciones de etanol y se agregan activadores metabólicos, con el objeto de que sea metabolizado hasta acetaldehído, se observa un incremento en la frecuencia de intercambios y de aberraciones cromosómicas. Estos resultados son similares a los reportados por otros investigadores en trabajos hechos sobre cultivos de células con diferentes concentraciones de acetaldehído. Con esto se ha concluido que es el acetaldehído el principal responsable de daño citogenético *in*

N DE ALCOHOLICOS ANALIZADOS	ICH (ICH/METAFASE)	ABERRACIONES CROMOSOMICAS	REFERENCIA BIBLIOGRAF.
9 MUJERES (MADRES) ALCOHOLICAS.	+(13.50)*	-	67
9 HIJOS DE ESAS MADRES ALCOHOL	+(9.71)**	-	69
21 HOMBRES ALCOHOL	+(11.30)	-	69
24 ALCOHOLICOS (H/M)	-	+ (***)	68
10 ALCOHOLICOS (H/M)	-	+ (***)	31
* - VALORES NORMALES - 10.95			
**- VALORES NORMALES - 18.95			
***- AUMENTO DE LA FRECUENCIA.			

TABLA: 1- ALTERACIONES-CROMOSOMICAS EN ALCOHOLICOS

CULTIVOS	CONCENTRACION DE ETANOL	EFECTO	REFER. BIBLIOGRAF.
LINFOCITOS	0.25-0.5% (24 hrs)	NO HAY ABERR. CROMOS.	71
	0.3 Y 1.2%	ROMP. CROMOSOMICO.	71
CELULAS HeLa	0.1%	NO HAY ABERR. CROMOS. SOLO CELS. CON MICRO- NUCLEOS.	72
CELS LNF			
DE RATON	0.17 Molar	NO AUMENTAN MUTAC.	73
FIBROBLASTOS	1.2%	AUMENTAN ROMPIMIENTO CROMATIDICO.	74
CHO	0.1%	NO HAY ICH.	75

TABLA: 2- DAÑO PRODUCIDO POR EL ETANOL EN CULTIVOS CELULARES, IN VITRO.

vitro. (1,2,76,37)

Con respecto a las bebidas alcohólicas en general, podemos decir que estas además de etanol y agua, contienen una gran diversidad de compuestos químicos responsables del aroma y sabor de las bebidas, cuya presencia depende de la materia prima y la forma de elaboración. Partiendo de esta consideración, también se han realizado estudios in vitro en la perspectiva de establecer las propiedades genotóxicas de distintas bebidas y en algunos casos, del conjunto de sustancias (congéneres) que quedan al ser evaporadas el agua y el etanol. Estos resultados indican que algunas bebidas y congéneres son mutagénicos en células somáticas y sistemas bacterianos.

OBJETIVOS

Partiendo de las consideraciones siguientes:

- a) La ingestión de bebidas alcohólicas está ligada a la presencia de cáncer en distintos órganos.
- b) Muchas sustancias carcinogénicas son mutagénicas.
- c) Que en nuestro país no existen estudios de las propiedades mutagénicas del tequila y el brandy.

En el presente trabajo se propuso establecer si las bebidas alcohólicas (brandy y tequila), tienen o no capacidad genotóxica en presencia de activadores metabólicos in vitro.

Para obtener lo anterior, se probaron distintas dosis de estas dos bebidas en cultivos de linfocitos y se determinó la frecuencia de intercambios de cromátides hermanas.

MATERIAL Y METODO

El desarrollo experimental se llevó a cabo en dos partes. La primera fué la obtención de la fracción microsomal; la segunda, la ocupa el cultivo de linfocitos y el consecuente tratamiento con las diferentes dosis de las bebidas alcohólicas. (Diagrama #1)

A.- OBTENCIÓN DEL ACTIVADOR METABOLICO: FRACCION MICROSOMAL S9.
(Según la Técnica de Brusick)

1.- INDUCCION.

1.1.- Se incrementó la actividad microsomal en hígado de rata inyectando Fenobarbital (80 mg/Kg de peso) por vía intraperitoneal durante cinco días. Veinticuatro horas posteriores a la última inyección, se sacrificó al animal por disección cervical.

1.2.- El hígado se pesó y homogenizó en solución de KCL frío (0.15 M a 4°C), utilizando 3 ml de KCL por gramo de tejido, almacenándose todo en hielo.

1.3.- La muestra se centrifugó a 9000 g. por 20 minutos a una temperatura de cero grados. El sobrenadante se almacenó a -800°C en frascos viales estériles.

2.- PREPARACION DE LA MEZCLA S9.

2.1.- Primeramente se preparó las siguientes soluciones:

- 0.2 M de NADP. (*)

-0.2 M de Glucosa-6-Fosfato. (*)

-0.4 M de MgCL. (**)

-1.65 M de KCL. (**)

-0.2 M de Buffer de de Fosfato de Sodio, con un pH de 7.4 estéril.

(*)= esterilizada por filtración.

(**)= esterilizada en autoclave.

2.2.- Tres soluciones marcadas como: A, B y C, se elaboraron y almacenaron de la siguiente manera:

Sol. A.- Alicuotas de ml de NADP (0.2 M), fueron distribuidas dentro de frascos viales estériles y congeladas a -80°C hasta su utilización.

Sol. B.- Alicuotas de 7.5 ml de glucosa (0.2 M) también fueron distribuidas dentro de frascos viales estériles y congeladas a -80°C.

Sol. C.- Contiene una mezcla de las siguientes sustancias:

-20 ml de MgCL (0.4 M).

-20 ml de KCL (1.65 M).

-500 ml de Buffer de Fosfatos (0.2 M).

-315 ml de Agua Destilada.

Todas estas sustancias fueron almacenadas a 4°C.

2.3.- Finalmente, se preparó 10 ml de la mezcla S9 de la siguiente manera:

-0.2 ml de solución A.

-0.25 ml de solución B.

-8.55 ml de solución C.

1.00 ml de la fracción S9.

Para obtener un total de 10.00 ml de la mezcla.

B.- CULTIVO DE LINFOCITOS. (Según la técnica de Wolff).

1.- Se colocaron 0.5 ml de sangre heparinizada de un individuo clínicamente sano en frascos de cultivo estériles, con 8 ml de medio de cultivo Mc Coy 5A modificado y 0.5 ml de Fitohemaglutinina.

La muestra se incubó a 37°C por 40 horas.

2.- Partiendo del hecho de que el tequila contiene 45% de alcohol y el brandy 35%, se probaron dosis equivalentes al 0.48, 0.96 y 1.44% de alcohol de cada una de estas bebidas, anadiéndose a los cultivos y dejando incubar a 37°C por 2 horas.

3.- Efectuada la operación anterior, las muestras fueron lavadas con medio de cultivo Mc Coy y se adicionaron 45 microlitros de la BrdU (20 mg/ml), 0.5 ml de Fitohemaglutinina y 8 ml de medio de cultivo. Se incubaron nuevamente por 48 horas y se les añadió colchicina (0.02 mg/ml) 50 minutos antes de la cosecha.

4.- Los cultivos con la fracción S9 (3%), fueron elaborados de la misma manera que los anteriores, anadiéndose ésta antes de colocar la BrdU.

C.- COSECHA

1.- El contenido de los frascos fue vaciado en tubos de ensaye.

Se centrifugó a 1500 rpm. por 10 minutos, el sobrenadante se eliminó y el botón celular resuspendido en solución de KCL (0.075 M), incubando a 37°C por 20 minutos.

2.- Se centrifugó nuevamente, eliminándose el sobrenadante y resuspendiendo el botón celular homogenizándolo.

D.- FIJACION.

1.- A la suspensión celular se agregó lentamente una mezcla reciente de Metanol-Ac Acético (3:1), dejándose reposar 15 minutos a temperatura ambiente.

2.- Se eliminó el sobrenadante por centrifugación y se realizó una segunda y tercera fijación siguiendo el mismo procedimiento de el paso anterior.

E.- TINCION. (Según la técnica de Schnaider).

1.- Con la suspensión celular se elaboraron preparaciones por goteo en portaobjetos previamente desengrasados en alcohol.

2.- Se sumergieron las laminillas por 40 minutos en una solución colorante Hoescht 33258 (100 microgramos/ml) y se deshidrataron en un horno a 60°C durante 30 minutos.

3.- Las laminillas se cubrieron con un Buffer Citrato-Fosfato con un pH de 7.0 y se colocaron bajo una lámpara de luz negra por 40 minutos. Se deshidrataron nuevamente al horno por 25 minutos.

Posteriormente, las laminillas se sumergieron en una solución Salina-Citrato (SSC) durante 20 minutos; se lavaron y secaron a temperatura ambiente durante 20 minutos.

4.- Finalmente, se tñeron con Giemsa al 4% (5ml de Buffer + 43 ml de agua destilada + 2 ml de Giemsa) durante 10 minutos.

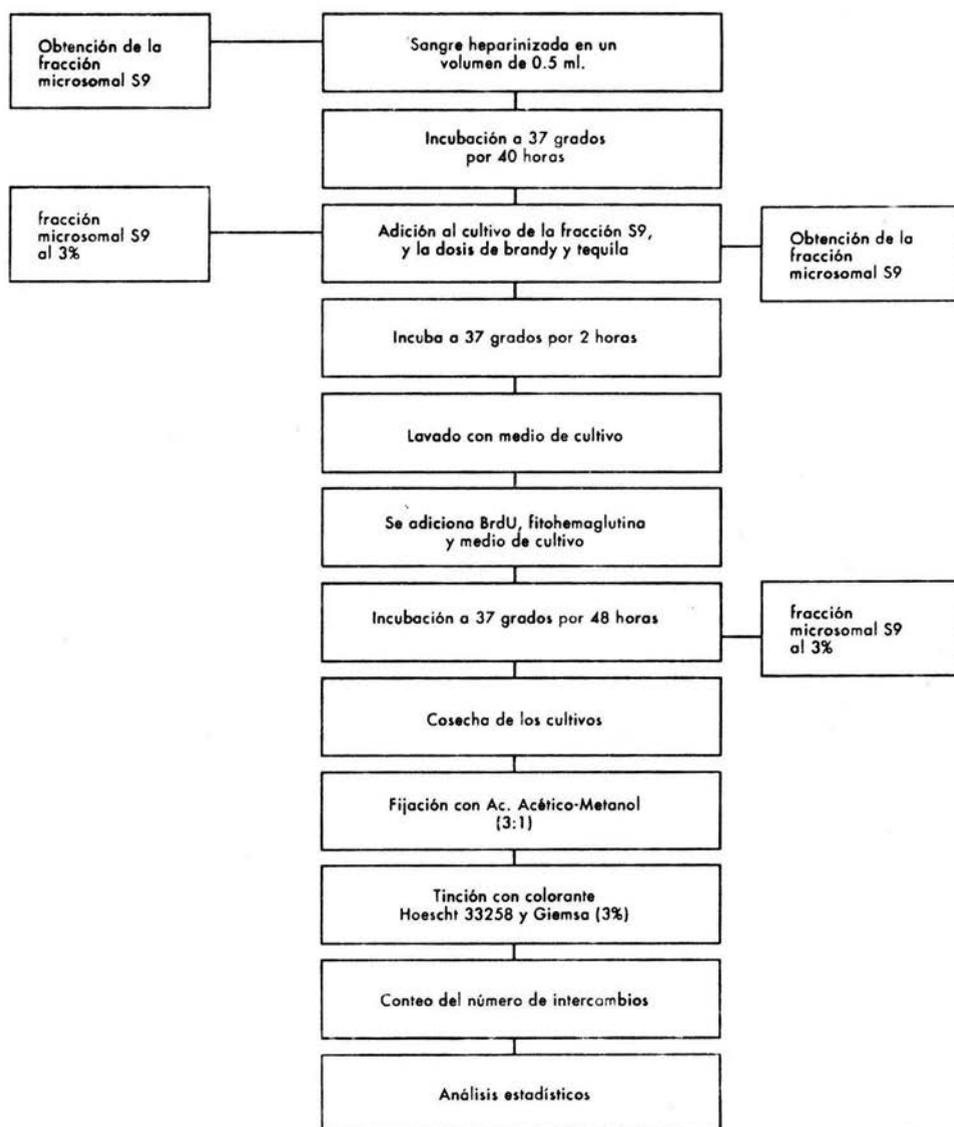
F.- ANALISIS AL MICROSCOPIO.

Se realizó el conteo del número de ICH presentes en 30 células de segunda división para cada una de las dosis.

G.- ANALISIS ESTADISTICO.

Con los resultados obtenidos, se elaboró un análisis bifactorial comparando estos resultados utilizando la prueba de Tuckey.

Diagrama No. 1



RESULTADOS

El número de intercambios para cada una de las dosis, así como para los testigos, se muestran en la tabla #3. Cada valor representa el número de intercambios presentes en cromosomas de células de segunda división (30 células por dosis).

Para observar el efecto de las dosis de tequila y brandy, se elabora un diseño bifactorial para comparar los valores medios de dos maneras: primero, comparando las medias de las dosis contra el testigo negativo; y segundo, comparando los valores de las dosis sin la fracción S9 contra los valores de las dosis con la fracción S9.

Para tal efecto se realizó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando la prueba de Tuckey. Esta prueba establece el efecto cuando existe una diferencia de dos medias que exceda un valor "T", denominado Diferencia Mínima Significativa Honesta ó DMSH, el cual se obtiene de la siguiente fórmula:

$$T = \sqrt{\frac{1}{n}q}$$

n= número de conteos.

q= valor de tablas (4.74).

Sustituyendo los valores en la fórmula, tenemos:

$$T = \sqrt{\frac{1}{30}}(4.74)$$

$$T = (0.18) (4.74)$$

$$\text{DMSH} = 0.85$$

De esta manera, se determina el efecto al comparar el valor obtenido de la resta de las medias con el obtenido en la ecuación de Tuckey. Si dicho valor es mayor que la DMSH, el efecto está presente; si es menor, no hay efecto.

A.- TESTIGO NEGATIVO CONTRA DOSIS DE TEQUILA Y BRANDY SIN LA FRACCION MICROSOMAL S9.

I.- Testigo negativo contra tequila sin S9.

\bar{X} de T (-)		\bar{X} de D	=		DMSH	EFECTO
6.8	-	8.16	=	1.36	0.85	+
6.8	-	8.3	=	1.5	0.85	+
6.8	-	10.53	=	3.73	0.85	+

\bar{X} de T (-) = Media del Testigo Negativo.

\bar{X} de D = Media de la Dosis.

Efecto = + Hay efecto.

- no hay efecto.

La diferencia para cada una de las dosis es mayor que el valor de la DMSH, por lo que hay efecto producido por la bebida para todas las dosis.

II.- Testigo negativo contra brandy sin S9.

\bar{X} de T (-)		\bar{X} de D	=		DMSH	EFECTO
6.8	-	6.06	=	0.74	0.85	-
6.8	-	7.96	=	1.16	0.85	+
6.8	-	8.93	=	2.13	0.85	+

La diferencia entre las dosis se presenta a partir de la segunda dosis, ya que los valores de la resta son mayores que el valor de la DMSH, por lo tanto hay efecto. en la primera dosis, el valor de la resta es menor que el valor de la DMSH, por lo tanto no hay efecto.

B.- TESTIGO NEGATIVO CONTRA DOSIS DE TEQUILA Y BRANDY CON LA FRACCION MICROSOMAL S9.

I.- Testigo negativo contra tequila con S9.

\bar{X} de T (-)		\bar{X} de D	=	DMSH		EFECTO
6.8	-	8.36	=	1.56	0.85	+
6.8	-	9.93	=	3.13	0.85	+
6.8	-	11.53	=	4.73	0.85	+

Para estas dosis, la diferencia es más significativa que los valores obtenidos en las dosis de tequila sin la fracción microsomal. Las tres dosis son mayores que el valor de la DMSH y el efecto es mayor.

II.- Testigo negativo contra brandy con S9.

\bar{X} de T (-)		\bar{X} de D	=	DMSH		EFECTO
6.8	-	6.6	=	0.2	0.85	-
6.8	-	9.0	=	2.2	0.85	+
6.8	-	10.33	=	3.53	0.85	+

La primera dosis es menor que el valor de la DMSH, por lo tanto no hay efecto. El efecto se presenta a partir de la segunda dosis, siendo mayor que en las dosis sin la fracción S9.

C.- DOSIS S/S9 CONTRA DOSIS C/S9.

Para determinar si existen diferencias entre las dosis, se compararon las medias de los tratamientos con la fracción S9, en contra de los tratamientos sin la fracción.

(Media de las Dosis S/S9 - Media de las dosis C/S9)

Así tenemos:

	D ₁	8.16	-	8.36	=	0.2	0.85+	- ++
TEQUILA	D ₂	8.3	-	9.93	=	1.63	0.85	+
	D ₃	10.53	-	11.53	=	1.0	0.85	+
	D ₁	6.06	-	6.6	=	0.54	0.85	-
BRANDY	D ₂	7.96	-	9.0	=	1.04	0.85	+
	D ₃	8.93	-	10.33	=	1.4	0.85	+

(+) = DMSH.

(++) = Efecto producido

No hay diferencia en las las primeras dosis para mabos tratamientos; el efecto que se presenta en estos es negativo al ser el valor de la diferencia menor que el valor de la DMSH. Para las restantes dosis el efecto existe al ser el valor de la diferencia mayor que la DMSH.

ANALISIS DE RESULTADOS

Para las dosis de tequila sin la fracción microsomal S9 se observó que existen diferencias en todas las dosis al compararlas contra el testigo negativo, por lo que el efecto se debe a la presencia de las sustancias acompañantes (congéneres), en donde se puede notar que con la dosis más alta el efecto se incrementa.

En el caso del brandy, se observó que la diferencia y por lo tanto el efecto, se presenta a partir de la segunda dosis. Para la primera dosis, en donde se aprecia que no hay efecto, se puede atribuir a que la concentración de brandy utilizada es baja. En contraste con los valores obtenidos en las dosis de tequila, los valores del brandy son menores, esto puede deberse a que esta bebida contiene congéneres menos nocivos que las del tequila, debido quizá a las diferencias en los procesos de producción y almacenamiento.

En las dosis de tequila conteniendo la fracción microsomal S9, se observó que existen diferencias en todas las dosis (mucho mayores que las presentadas por las dosis sin S9). Esta diferencia se puede atribuir a que el etanol es metabolizado hasta acetaldehído, el cual incrementa el efecto y por lo tanto el daño, sumando también el efecto que tienen los congéneres.

Con respecto al brandy, los efectos son observables a partir de la segunda dosis (al igual que en el caso anterior, las diferencias son mayores que las presentadas por el brandy sin S9). Este efecto puede nuevamente ser atribuido al metabolismo del etanol hacia acetaldehído, sumando los efectos de los congéneres. Asimismo, para la primera dosis se puede atribuir la ausencia de efecto a que la concentración de brandy utilizada es muy baja para causar efecto alguno.

En el caso de los valores obtenidos al comparar las medias con y sin la fracción S9, podemos mencionar lo siguiente: Los valores medios, con la fracción microsomal, son mayores que los valores de las dosis en ausencia, debido a que el contenido en las bebidas es metabolizado hasta acetaldehído provocando daño citogenético mayor que el presentado en las dosis sin S9. A esto hay que sumar el papel que juegan los congéneres, los cuales, pueden contribuir a incrementar la frecuencia de intercambios.

Las diferencias entre los valores de las medias se establecen a partir de la segunda dosis para ambos tratamientos, ya que el resultado de la diferencia entre las medias es mayor que el valor de la DMSH.

En las primeras dosis no se observa ningún efecto (el valor comparativo es menor que la DMSH), esto probablemente se deba a que las concentraciones de las bebidas utilizadas es baja.

CONCLUSIONES

Los resultados estadísticos obtenidos en este trabajo indican que tanto en los cultivos sin S9 y en los cultivos en donde se agrega la fracción microsomal, se presenta un incremento en la frecuencia de intercambios en la mayoría de las dosis, a excepción de la primera dosis de brandy.

Para explicar lo anterior es necesario considerar las conclusiones que se desprenden de los estudios realizados por varios investigadores en distintos sistemas biológicos y empleando métodos citogenéticos, con la finalidad de determinar las propiedades genotóxicas del etanol, acetaldehído y las sustancias que acompañan a estas.

De esta forma, se cuenta con la información que permite explicar los efectos mutagénicos asociados a las bebidas alcohólicas.

ETANOL.

Actualmente se ha determinado que en cultivos celulares con etanol este puede o no producir daño citogenético (Tabla: 4). Los estudios realizados en fibroblastos, linfocitos o células linfoides de mamífero, no manifiestan algún efecto en la frecuencia de aberraciones cromosómicas o en la frecuencia de intercambio de cromátides hermanas. A pesar de esto, algunos autores han reportado que el etanol es capaz de producir alteraciones cromosómicas, sin embargo, la opinión más generalizada entre los distintos investigadores es la de considerar que el etanol in vitro no provoca alteraciones cromosómicas. (39)

Los resultados obtenidos sin la fracción S9, coinciden con los de la mayoría de los autores, esto se explica por el hecho de que en las condiciones en que se realizaron los cultivos no existen los elementos enzimáticos para metabolizar el etanol. No hay acetaldehído, agente químico al cual se le atribuye la potencialidad para provocar daño citogenético, sin

embargo, las alteraciones que se observan pueden ser atribuidas a las sustancias acompañantes de las bebidas. Con respecto a los cultivos de brandy sin la fracción microsomal, la ausencia de alteraciones en la primera dosis podría deberse a una baja concentración de la bebida.

CULTIVO CELULAR	RESULTADOS	REFER. BIBLIOGRAFICA
LINFOCITOS	NO HAY ABERRAC. CROMOS	18
	NO HAY ABERRAC. CROMOS	68
	NO HAY ABERRAC. CROMOS	
	NI ICH	8
	NO HAY ICH	14
	NO HAY ICH	68
	NO HAY ICH	4
	SI HAY ABERRAC. CROMOS	15
	SI HAY ABERRAC. CROMOS	7
LINFOCITOS Y CHO	NO HAY ABERRAC. CROMOS	5
CHO	SI HAY ICH, CON S9	22
	SI HAY ABERRAC. CROMOS	
	CON S9	5
CELS. V-79	NO HAY INCREMENTO EN LA FRECUENCIA DE MICRONUCLEOS	45

TABLA: 4.- ACTIVIDAD MUTAGENICA DEL ETANOL EN CULTIVOS CELULARES.

* EL NUMERO DE LA REFERENCIA CITA A LOS RESULTADOS DE LA BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.

ACETALDEHIDO.

El acetaldehído es el primer metabolito del etanol. Se considera un agente altamente reactivo, capaz de producir daño citogenético debido a la naturaleza electrofílica de su carbón carbonilo, lo que le permite interactuar con una gran diversidad de macromoléculas, entre ellas los ácidos nucleicos. Hemmink y Susi (1984) demostraron que esta molécula es capaz de producir aductos con citosina y purina en los nucleosidos y desoxinucleosidos, así como entrecruzamientos entre bandas de ADN.

Estudios realizados en animales de laboratorio expuestos al acetaldehído muestran que este produce tumores en vías respiratorias (28, 44,23). En otros se observa que actúa como promotor al incrementar la frecuencia de tumores provocados por el Benzo-a-pireno presente en el humo del cigarro, favoreciendo la presencia de cáncer en vías respiratorias. (21)

Experimentos realizados para determinar la mutagenicidad del acetaldehído, indican que este incrementa la frecuencia de intercambio de cromátides hermanas y de aberraciones cromosómicas, tanto en individuos expuestos como en animales de laboratorio y cultivos celulares (Tabla:5). De lo anterior se desprende que esta sustancia tiene propiedades carcinogénicas y mutagénicas.

En nuestro caso, la ausencia de efecto en la primera dosis con brandy, se puede atribuir a una baja concentración de esta bebida y por lo tanto de etanol para ser metabolizado.

CULTIVO CELULAR	RESULTADOS	REFER. BIBLIOGRAFICA
LINFOCITOS	ABERRACIONES CROMOS (+)	6
	ICH (+) *	37
	ICH (+) *	14
	ICH (+) *	13
	ABERRACIONES CROMOS (+)	13
	ABERRACIONES CROMOS (+) *	63
	ABERRACIONES CROMOS (+) *	62
RATON CBA (MEDULA OSEA)	ICH (+) *	64
HAMSTER CHINO (MEDULA OSEA)	ICH (+)	1
EMBRION DE RATA	ABERRACIONES CROMOS (+)	91

TABLA:5.- ACTIVIDAD MUTAGENICA DEL ACETALDEHIDO.

* RELACION DOSIS- DEPENDIENTE

BEBIDAS ALCOHOLICAS Y CONGENERES.

El hombre consume el etanol en forma de bebidas alcohólicas, las cuales aparte de etanol y agua, contienen una enorme variedad de sustancias que son las responsables del aroma y sabor específico y característico de cada una de ellas. Al conjunto de éstas se les conoce con el nombre de congéneres y se producen durante los procesos de elaboración o durante el almacenamiento. Nykanen y Soulamainen listaron alrededor de 1300 componentes en bebidas alcohólicas, algunos de difícil extracción y otros en baja concentración, entre los que encontramos: alcoholes, aldehídos (como el acetaldehído y acroleína), aminas constituidas principalmente por nitrosaminas (N-Dimetilamina y N-Dietilamina); componentes fenólicos como taninos e hidrocarburos como lo son el tolueno, benceno y estireno, sin descartar el benzeno-a-pireno.

Debido a esto, se han elaborado experimentos para determinar el daño citogénico producido por las bebidas totales, los congéneres y en algunos casos, de algunas de estas sustancias que ya han sido identificadas. (Tabla 6)

BEBIDAS TOTALES.

En relación a los estudios mutagénicos de las bebidas totales, estos se han realizado en sistemas bacterianos y en células de mamífero con y sin activadores metabólicos. (Tabla 6) Los resultados indican que algunas bebidas pueden o no provocar alteraciones en el material genético en cultivos en los que no hay activadores metabólicos (S9). De lo anterior, se concluye que en algunos casos el conjunto de sustancias acompañantes de las bebidas tienen propiedades mutagénicas.

Con respecto al potencial genotóxico de los congéneres de algunas bebidas, los datos experimentales indican que estos tienen propiedades mutagénicas. (Tabla:7)

Entre los compuestos encontrados en algunas cervezas y whiskies destacan las nitrosaminas (NDMA y NDEA), las cuales son carcinogénicas en animales de laboratorio, y mutagénicas en sistemas bacterianos. (2,55,17,85,92)

En algunas cervezas y vinos rojos se han identificado flavonoides a niveles de 739 mg/lt. Existen estudios epidemiológicos que muestran una estrecha relación entre el consumo de vino rojo y la presencia de cáncer gástrico y esofágico. Pruebas de genotoxicidad de estas sustancias en *Salmonella typhimurium*, muestran que estas sustancias tienen propiedades mutagénicas.

Finalmente, en base a nuestros resultados, podemos decir que las bebidas alcohólicas nacionales, como el brandy y tequila, son capaces de producir alteraciones citogenéticas in vitro en ausencia de la fracción microsomal S9, e incrementar notablemente dichas alteraciones en presencia de esta fracción.

BEBIDAS	CULTIVO CEL.	RESULTADOS	REF. BIBLIOGRAF.
WHISKY	LINFOCITOS	NO ABERRAC.CROMOS	68
JEREZ	CHO	ICH. C/S9	22
OPORTO	CHO	ICH. S/S9	22
VINO ROJO	SALMONELLA TYPHYMURIUM. TA- 98.	MUTAGENICO C/S9.	42
CERVAZA	" " " " "	NO MUTAGENICO S/S9	42
CONTROY	LINFOCITOS	NO HAY ABERRAC. CROMOSOMICAS.	68

TABLA: 6.- ACTIVIDAD MUTAGENICA DE LAS BEBIDAS ALCOHOLICAS.

BEBIDAS ALCOHOL	CULTIVO CEL.	RESULTADOS	REF. BIBLIOGRAF.
WHISKY JAPONES.	SALMONELLA TYPHYMURIUM. TA-100.	MUTAGENICO S/S9	87
WHISKY ESCOSES.	" " " " " "	MUTAGENICO S/S9	87
BRANDY FRANCES.	" " " " " "	MUTAGENICO S/S9	87
WHISKY	LINFOCITO HUMANO	ICH. (+) DOSIS-EFECTO. S/S9	59
VINO ROJO.	SALMONELLA TYPHYMURIUM. TA-100 Y TA-98.	MUTAGENICO C/S9 Y S/S9.	85
CERVEZA, GINEBRA Y VINO BLANCO.	" " " " " "	NO MUTAGENICO C/S9 Y S/S9.	85

TABLA: 7.- ACTIVIDAD MUTAGENICA DE LOS EVAPORADOS (CONGENERES) DE BEBIDAS ALCOHOLICAS TOTALES.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abernethy, D.J., J.H. Frazelle y C.J. Boreiko. 1982. Effects of ethanol, acetaldehyde and acetic acid in the C3H/10T1/2C18 cell transformation system. *Environ Mutagen.* 4. pp. 331 (Abstr).
- 2.- Abernethy, D.J. 1983. Relative cytotoxic and transforming potential of respiratory irritants in the C3H/10T1/2 cell transformation system. *Environ Mutagen.* 5. pp. 419 (Abstr).
- 3.- Alva Ixtlixochitl, L. 1981. Relaciones. Secretaría de Fomento Minero. México.
- 4.- Athanasiou, K. y C.S. Bartsocas. 1980. The effect of pine resin in chromosome breakage and sister chromatid exchanges in human peripheral lymphocytes. *Mutation Res.* 79. pp. 79-80.
- 5.- Au, W. y F. M. Badr. 1979. Does ethanol induce chromosome damage *In vitro*. 15. pp. 221 (Abstr).
- 6.- Badr, F. M. y F. Hussain. 1977. Action of ethanol and its metabolite acetaldehyde in human lymphocytes, *in vivo* and *in vitro* study. *Genetics.* 86, s2-s3. (Abstr).
- 7.- Badr, F. M., R.S. Badr, R. L. Asker y F. Hussain. 1977. Evolution of the mutagenic effects of ethyl alcohol by different techniques, in: M. M. Cross. (Ed), *Alcohol, Intoxication and Withdrawal IIIa, Biological Aspects of Ethanol*, Plenum. New York. pp. 25-46.
- 8.- Banduhm, N. y G. Obe. 1985. Mutagenicity of methyl 2-benzimidazolecarbamate, diethylstilbestrol and estradiol: Structural chromosomal alterations, sister-chromatid exchanges, c-mitoses, polyploidies and micronuclei. *Mutation Res.* 156. pp. 149-218.

- 9.- Barch, D.H., S.C. Kuemmerle., D.F. Hollenberg y P.M: Iannaccone. 1984. Desophageal microsomal metabolism of n-nitrosomethyl benzylamine in the zinc-deficient rat. *Cancer Res.* 44. pp. 5628-5633.
- 10.- Barilyak, I.R. y S. Y. Kosachuk. 1983. Embriotoxic and mutagenic activity of ethanol after intra-amniotic injection. *Genetic.* 17. pp. 57-60.
- 11.- Berruecos Villalobos. L. 1981. El alcoholismo y el abuso de el alcohol como problema de salud pública, desde el punto de vista de un antropólogo social. (Manuscrito inédito).
- 12.- Berruecos Villalobos. L. 1985. El consumo de alcohol en algunos grupos indígenas de México. *El Alcoholismo en México: Negocio y Manipulación.* Editorial Nuestro Tiempo. pp. 136-177.
- 13.- Bohlke, J.V., S. Singh y H. W. Goedde. 1983. Cytogenetic effects of acetaldehyde in lymphocytes of Germans and Japans: SCE, clastogenic activity and cell cycle delay. *Human Genet.* 63. pp. 285-289.
- 14.- Bonnister, P. y S. Bogovski. 1981. Animal species in which n-nitroso compounds induce cancer. *Int. J. Cancer.* 27. pp. 471-474.
- 15.- Bonnister, P. y M. S. Lowosky. 1987. Ethanol and hypogonadism *Alcohol & Alcoholism.* Vol. 22 (3). pp. 251-256
- 16.- Bradley, M., I.C. Hsu y C.C. Harris. 1979. Relationships between sister chromatids exchange and mutagenicity, toxicity and DNA damage. *Nature (London).* 282. pp. 318-320

- 17.- Bregman, A.A. 1971. Cytogenetic effects of ethanol in human leukocyte cultures, EMS. Newslett. 1971/4, 35.
- 18.- Cadotte, M. , S. Alla d y M. Verdy. 1973. Lack of effect of ethanol in vitro on human chromosomes. Ann. Genet. 16. pp.55-56.
- 19.- C. S. Lieber, E. Baraona, M. A. Leo y A. Garro. 1987. Metabolism and metabolic effects of ethanol, including interaction with drugs, carcinogens and nutrition. Mutation Res. 186. pp. 201-233.
- 20.- Chun-Li, Y., Swaminathan, B., Butler, L. y Fratt, D. 1986. Isolation and identification of rutin as the major mutagen of red wine. Mutation Res. 170. pp. 103-113.
- 21.- Dellarco, V. 1988. A mutagenicity assessment of acetaldehyde. Mutation Res. 195. pp. 1-20.
- 22.- de Raat. W.K., P.B. Davis y G. L. Bakker. 1983. Induction of sister-chromatid exchange by alcohol and alcoholic beverages after activation by rat-liver homogenate. Mutation Res. 124. pp. 85-90.
- 23.- Dreosti, I., Ballar, F. Bolling., Recard, I. y Manuel, S. 1981. The effects of ethanol and acetaldehyde on DNA syntesis in growing cells and foetal development in the rat. Alcohol: Clin. Exp. Res. 5. pp. 357-362.

- 24.- Drukery, H., R. Preussman., S. Ivankovic y D. Schmaehl. 1967. Organotrope carcinogene wirkungen bei 65 verschiedenen n-nitroso verbindungen an BD-Ratten Z. Krebsforsch. 64. pp. 103-201.
- 25.- Ernest L. Abel. 1982. Consumption of alcohol during pregnancy: A review of effects on growth and development of offspring. Human Biology. Vol. 54 (3). pp. 421-453.
- 26.- Feinman. L. y Ch. S. Lieber. 1988. Toxicity of ethanol and other components of alcoholic beverages. Alcoholism: Clinical and Experimental Research. Vol. 12 (1). Editorial.
- 27.- Feron, V. J. 1979. Effects of exposure to acetaldehyde in Syrian hamsters simultaneously treated with benzo-a-pyrene or diethylnitrosamine. Progr. Exp. Tumor Res. 24. pp. 162-176.
- 28.- Feron, V. J., A. Krusysse y R. A. Wontersen. 1982. Respiratory tract tumors in hamsters exposed to acetaldehyde vapour alone or simultaneously to benzo-a-pyrene or diethylnitrosamine. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 18. pp. 13-31.
- 29.- Fong, L. Y. Y., W.L. Ng y P: M: Newberne. 1984. N-nitrosodimethylamine-induced forestomach tumours in male Sprague-Dawley rats fed a zinc-deficient diet, in: I. K. Rao., W. Lijinsky and J. L. Epler (Eds). Plenum Press. New York. pp. 543-546.
- 30.- Friedrich, V. y G. Nass. 1983. Evaluation of a mutation test using S49 mouse lymphoma cells and monitoring simultaneously the induction of dexamethasone resistance, 6-thioguanine resistance and ouabain resistance. Mutation Res. 110. pp. 147-162.

- 31.- Gabriel, G. M., T. F. Schrager y P.M. Newberne. 1982. Zinc deficiency, alcohol and a retinoid: association with oesophageal cancer in rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 68. pp. 785-789.
- 32.- García Travesi, G. 1985. Patología social del alcoholismo: Un problema de salud pública. El alcoholismo en México II. Aspectos Sociales, Culturales y Económicos. Fondo de Investigaciones Sociales A. C. Segunda Edición.
- 33.- González, G. Jorge y Ma. Elena Manjarrez. 1987. Me case con un alcohólico?. Como saberlo y que hacer. Editorial Concepto. pp. 11-37
- 34.- Gutemplan, V. 1987. N-nitrosamines: Bacterial mutagenesis and in vitro metabolism. *Mutation Res.* 186. pp. 81-134.
- 35.- Hayes, S. 1985. Ethanol induced genotoxicity. *Mutation Res.* 143. pp. 23-27.
- 36.- Hedner, K., J. Wodstein y F. Mitelman. 1984. Increased sister chromatid exchange frequency in chronic alcoholic users. *Hereditas.* 101. pp. 265-266.
- 37.- Hemminki, K. y R. Suni. 1984. Sites of reaction of glutaraldehyde with nucleosides. *Arch. Toxicol.* 55. pp. 186-190.
- 38.- Hoef, H y G. Obe. 1983. SCE-inducing congeners in alcoholic beverages. *Mutation Res.* 121. pp. 247- 251.
- 39.- Jansson, T. 1982. The frequency of sister chromatid exchange in human lymphocytes treated with ethanol and acetaldehyde. *Hereditas.* 97. pp. 301-303.

- 40.- Jones, K. G., Smith D L., Ulleland C. N. y Streissguth A. P. 1973. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *The Lancet*. 1. pp. 1267-1271.
- 41.- Kenneth, L. Jones., D. W. Smith y Christy N. Ulleland. 1973. Pattern or malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *The Lancet*. June. 9.
- 42.- Kikukawa, K., T. Kato y H. Hayatsu 1985. Screening of mutagenicity of processed foods by the use of blue cotton. *J. Food Hyg. Soc. Japan*. 26. pp. 432-436.
- 43.- Korte, A. y G. Obe. 1981. Influence of chronic ethanol uptake and acute acetaldehyde treatment on the chromosomes of bone-marrow cells and peripheral lymphocytes of Chinese hamsters. *Mutation Res*. 88. pp. 389-395.
- 44.- Lam, C. W., M. Casanova y H. D. A. Heck. 1986. Decreased extractability of DNA from proteins in the rat nasal mucosa after acetaldehyde exposure. *Fund. Appl. Toxicol*. 6. pp. 541-550.
- 45.- Lasue, C., Z. W. Gu., W. Venegas y J. Chouroulinko. 1984. The in vitro micronucleus assay for detection of cytogenetic effects induced by mutagens-carcinogens: Comparison with the in vitro sister-chromatid exchange assay. *Mutation Res*. nº30. pp. 273-282.
- 46.- Lijinsky, W. 1984. Contrasting responses of rats and Sirian hamsters to orally administered n-nitroso compounds in: I.K. o Neill R.C. von Borstel., J. E. Long., C. T. Miller and H. Bartsch. (Eds). *N-nitroso compounds: Occurrence Biological Effects and Relevance to Human Cancer*. IARC. Publ. 57. IARC, Lyon. pp. 617-626.

- 47.- Lijinsky, W. 1984. Estructure activity relations in carcinogenesis by n-nitroso compounds, in: T. K. Rao., W. Lijinsky and J.L. Epler (Eds) . Plenum Press. New York. pp. 189-231.
- 48.- Loquet, C., G. Toussaint y J. Y. Letalaer. 1981. Studies on mutagenic constituents of apple brandy and various alcoholic beverages collected in western France, a high incidence area for oesophageal cancer. Mutation Res. 88. pp. 155-164.
- 49.- Mannisto, P. T., N. N. Vedernikova., S.A. Borisenco., R. K. Tuominen., K. Kiianmaa y Y. V. Burov. 1987. Effect of chronic ethanol administration and abstinence on serum Thyroid-stimulating hormone, prolactin and growth hormone concentrations in rats with high and low ethanol intake. Alcohol & Alcoholism. Vol. 22 (3). pp. 251- 256.
- 50.- Meisner, L. F., Inhorn, S. L. y P. M. nielson. 1970. Chemically induced chromatid breaks: toxigenic or mutagenic. Mann. Chrom: Newslett. 11. pp. 69-70. (Abstr).
- 51.- M. Souza y Machorro. 1988. Alcoholismo. Conceptos Básicos. Editorial Manual Moderno. pp. 134.
- 52.- Mitelman, F. 1978. Chromosome aberrations in chronic alcoholics. The Lancet. January. pp. 216.
- 53.- Morales, P. 1988. El daño a la información genética y los intercambios de cromatides hermanas. Ciencia y Desarrollo. 81. . 65-72.
- 54.- Murray-Lyon., Iain. M. 1985. Alcohol and foetal damage. Alcohol & Alcoholism. Vol. 20. pp. 185- 188.

- 55.- Nagao, M., Y. Takahashi., K. Wakabayashi y T. Sugimura. 1981. Mutagenicity of alcoholic beverages. *Mutation Res.* 88. pp.147-154.
- 56.- Naveillan, F. Pedro. 1981. Sobre el concepto de alcoholismo *Biol. of Sanit. Panam.* 91 (4). pp. 340-348.
- 57.- Norma Oficial Mexicana (NOM). "Tequila". NOM-V-7-1978.
- 58.- Norma Oficial Mexicana (NOM). "Bebidas Alcohólicas Destilads-Brandy". NOM-V-18-1983.
- 59.- Nykanen, L. y P. de H. Soumalainen. 1983. *Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages.* Reidel. Dordrecht.
- 60.- Obre, G. 1980. Mutagenic activity of ethanol in: K. Ericksson J. D. Sinclair and K. Kilanmaa. (Eds). *Animal Models in Alcohol Research.* Academia Press. New York. pp. 377-391.
- 61.- Obe, G. 1981. Acetaldehyde not ethanol is mutagenic, in : A Kappas (Ed). *Progress in Mutation Research.* Vol. 2. Elsevier/North Holland Amsterdam. pp. 19-23.
- 62.- Obre, G. 1984. Karzinogene und mutagenie Wirking von Alcohol in: K. Zamg (Ed). *Klinische Genetik des Alkoholismus,* Kohlhammer, Stuttgart.
- 63.- Obe, G. 1985. Spontaneous level of somatic chromosome aberrations in man, in : M Sarsa and H Norppa (Ed). *Maniting of Ocupational Genotoxicants,* Alan P. Liss. New York. pp. 25-37.

- 64.- Obe, G., A. T. Natarajen., M. Meyers y A. Den Hertog. 1979. Induction of chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of human blood in vitro and of SCEs in bone-marrow cells of mice in vivo by ethanol and its metabolite acetaldehyde. *Mutation Res.* 68. pp. 291-294.
- 65.- Obe, G. y D. Anderson. 1987. Genetic effects of ethanol. *Mutation Res.* 186. pp. 177-200.
- 66.- Obe, G y H. Ristow. 1977. Acetaldehyde but not ethanol induces sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells. *Mutation Res.* 56. pp. 211- 213.
- 67.- Obe, G. y H. Ristow. 1979. Mutagenic, cancerogenic and teratogenic effects of alcohol. *Mutation Res.* 65. pp. 229-259.
- 68.- Obe, G., y H. Ristow y J. Herha. 1977. Chromosomal damage by alcohol in vitro and in vivo, in: M. M. Gross (Ed). *Alcohol, Intoxication and Withdrawal, Experimental Studies. IIIa*, Plenum Press. New York. pp. 47- 70.
- 69.- Obe, G., H. Ristow y J. Herha. 1979. Effect of ethanol on chromosomal structure and function, in: E. Maychrowicz and E. P. Noble. (Eds), *Biochemistry and Pharmacology of ethanol. Vol. 1*. Plenum. New York. pp. 659-676.
- 70.- Obe, G., R. Jones y S. Schmidt. 1986. Metabolism of ethanol in vitro produces a compound which induces sister chromatid exchange in human peripheral lymphocytes in vitro: Acetaldehyde not ethanol is mutagenic. *Mutation Res.* 174. pp. 47-51.

- 71.- Okada, M. 1984. Comparative metabolism of n-nitrosamines in relations to their organ an species specificity, in: I. K. O'Neill, R. C. von Borstel., J.E. Long., C. T. Miller and H. Barstch. (Eds). N-nitroso compounds: Occurrence Biological Effects and Relevance to Human Cancer. IARC. Publ. 57. IARC, Lyon. pp. 401-409.
- 72.- Poskitt, E.M.E. 1984. Foetal alcohol syndrome. Alcohol & Alcoholism. Vol. 19 (2). pp. 159-165.
- 73.- Revista de Geografía Universal Ilustrada. 1979. "El Vino". Edición Especial, Agosto/Septiembre. 3a. Editores. pp. 1-136.
- 74.- Revista Visión. 1987. "México avanza en la vitivinicultura" Noviembre. Vol. 69 (10).
- 75.- Revista Visión. 1988. "México entre los mejores productores: Tierras aptas para el cultivo de la vid". Noviembre. Vol. 71 (10).
- 76.- Ristow, H. y G. Obe. 1978. Acetaldehyde induces crosslinks in DNA and causes sister chromatid exchanges in human cells. Mutation Res. 58. pp. 115-119.
- 77.- Rivera Cazares, Juan. 1988. Los agaves mexcaleros en México. Información Científica y Tecnológica (ICy T). CONACYT, Diciembre. Vol. 10 (147). pp. 5-8.
- 78.- Roman Celis, C. 1983. Aspectos Históricos. El alcoholismo en México, III. Memorias del Seminario de Análisis. Fundación de Investigaciones Sociales A.C. pp. 13-26.
- 79.- Rueff, J., Jaires, H., Gomez, M., Barba, H. y Halpern, M. 1984. DNA-damaging activity of flavonoid-containing beverages. Mutatio Res. 130. pp. 243-246.

- 80.- Sahagún, B. 1956. *Historia General de las Cosas de la Nueva España*. Edit. Porrúa. México.
- 81.- Selser Ventura, C. 1985. Anuncio y alcohol, el mensaje tras el medio. *El Alcoholismo en México, Negocio y Manipulación*. Editorial Nuestro Tiempo. pp. 112-135.
- 82.- Seshadri, R., E. Baker y G. R. Sutherland. 1982. SCE analysis in mother exposed to DNA-damaging agents and their newborn infants *Mutation Res.* 97. pp. 137-146.
- 83.- Sran, R.J., J. Kocisova y P. Marecek. 1985. Possible additive effects of alcohol in groups occupationally exposed to mutagens. *Fouth Int. Fonf. Environ. Mutagen.*, Stockholm. June 24-28. abstract book. pp. 379.
- 84.- Sreenathon, R.N., R. Padmanabhan y S. Singh. 1982. Teratogenic effects of acetaldehyde in the rat. *Drug Alcohol Depend.* 9. pp. 339-350.
- 85.- Stalts, D., Sevlíc, B., Krewski, D., Klossen, R., Bendall, R y Junkins, B. 1982. Mutagenicity screening of foods, 1. Results with beverages. *Environ Mutagen* 4. pp. 477-492.
- 86.- Swann, D.F., A.M. Coe y R. Mace. 1984. Ethanol and dimethylnitrosamine and diethylnitrosamine metabolism and disposition in the rat. Possible relevance to the influence of ethanol on human cancer incidence. *Carcinogenesis.* 5. pp. 1337-1343.
- 87.- Tuyns, et al. 1980. Researches concernant les facteurs etiologiques du cancer de loesophage dans 1 Quest de la France. *Bull.*

- 88.- Valimaki, M. y R. Ylikarit. 1981. alcohol and sex hormones. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 41. pp. 99-105.
- 89.- Velazco Fernández, R. 1988. Alcoholismo, Visión Integral. Editorial Trillas. pp. 48-64.
- 90.- Wontersen, R. A., L. M. appelman., a. Vangarderrennoetner y V. J. Feron. 1986. Inhalation toxicity of acetaldehyde in rats 3. Carcinogenicity study. Toxicology. 41. pp. 213-232.
- 91.- Wontersen, R. A., L. M. Appelman., V. J. Feron y C. A. Van Der Heidjen. 1984. Inhalation toxicity of acetaldehyde in rats II. Carcinogenicity study: interm results after 15 months. Toxicology. 31. pp. 123-133.
- 92.- Yahagi, T., Nagao, M., Sieno, Y., Matsushima, T., Sugimura, T. y Masashi, O. 1977. Mutagenicities of N-nitrosamines in Salmonella. Mutation Res. 48. pp. 121-130.

FE DE ERRATAS

POR PROBLEMAS EN EL PROGRAMA DE LA
COMPUTADORA EN EL PAGINADO DEL PRE-
SENTE TRABAJO SE OMITIO LA PAGINA
No. 17.

LA PRESENTE ACLARACION ES PARA
INFORMAR QUE EL CONTENIDO ESTA COM-
PLETO Y NO FALTA INFORMACION.