



71  
zey

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**

**EFEECTO DE LA VITAMINA E, SOBRE LA FRECUENCIA  
DE LOS INTERCAMBIOS DE CROMATIDES  
HERMANAS EN EL CULTIVO DE LINFOCITOS  
HUMANOS.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A :  
SILVIA VAZQUEZ GARDUÑO**

**No. DE CUENTA: 8352427-9**



**DIRECTORES DE TESIS: M.C. SANDRA DIAZ BARRIGA ARCEO  
DR. EDUARDO MADRIGAL BUJAI DAR**

**CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO**

**1995**

**FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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 está 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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
 FACULTAD DE ESTUDIOS  
 SUPERIORES CUAUTITLAN  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



DR. JAIME KELLER TORRES  
 DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
 P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo de tesis: Efecto de la Vitamina E, sobre la frecuencia de los intercambios de Cromátidos Hermanas en cultivo de -  
linfocitos humanos.

que presentó la pasante: Maria Sylvia Vázquez Carduño,  
 con número de cuenta: B352427-9 para obtener el TITULO de:  
Química Farmacéutica Biológica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 14 de Diciembre de 1994

PRESIDENTE	<u>M. V. Z. Benito López Baños</u>	
VOCAL	<u>Q.F.B. María Esther Revuelta Miranda</u>	
SECRETARIO	<u>M. en C. Sandra Díaz Barriga Arceo</u>	
1er. SUPLENTE	<u>Q.F.B. Virginia Oliva Arellano</u>	
2do. SUPLENTE	<u>Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez</u>	

A G R A D E C I M I E N T O S

## A G R A D E C I M I E N T O S .

### A MIS PADRES

Angel y Silvia.

Por su apoyo, sacrificios y dedicación les doy gracias porque me dieron la -- vida y la mejor herencia que pude haber deseado, mi educación.

Y porque gracias a ustedes realice uno de mis grandes sueños.

Que Dios los bendiga.

### A MIS HERMANOS

Angel, Arturo y Oscar.

Porque aunque no lo crean los quiero mucho y espero que también ustedes, - logren lo que mas deseen, salgan adelante , se superen y esto sea un pequeño ejemplo para su realización.

### A MIS ABUELITOS

Eufemio, Marina, y Julia.

Por su gran amor que siempre me --- dicitán y porque aunque dos de ellos ya no esten siempre tuve una gran ternura atención y cariño, no puedeo dejar de mencionarlos. Ya que de ustedes- solo recibí buenos consejos y bendiciones.

DEDICATORIA.

A MI HERMANO CESAR.

Este trabajo se lo dedicó muy especialmente a mi hermano José César al que amo y admiró aunque ya no esta con nosotros, se que desde donde estés te dará gusto que al -- fin de este paso en mi vida. Siempre vivirás en mi corazón y cada meta que logré será en tu memoria.

Porqué se que era algo que tu deseabas que realizará y - por el gran amor que sembraste en esta vida y el ejemplo de amistad que nos diste a todos, NUNCA TE OLVIDARE.

A MI DIRECTORA DE TESIS  
Sandra Díaz Barriga Arceo .

Por haberme esperado tanto tiempo, por creer en mí, por su apreciable apoyo , le doy las gracias por su comprensión . Y mas que una profesora con todo respeto espero me considere una amiga ya que usted es para mí una gran persona y ser humano.

A MI CO-DIRECTOR.

El Dr. Eduardo Madrigal Bujaidar.

Por haberme abierto las puertas del laboratorio de Genética por, su valiosa ayuda , --- apoyo, y observaciones . MIL GRACIAS.

A LOS MAESTROS DEL H. H. LABORATORIO  
DE GENETICA DE LA ENCB .

Martha Cassani y Arturo Piña .

Por haberme dedicado un poco de su tiempo y sabiduría así como su apoyo. GRACIAS.

A MIS AMIGOS .

Irene, Ernesto, David, Gaby , Bety y Angelica.

Por haber sido y seguir siendo quienes me han apoyado y escuchado siempre , gracias por su sincera amistad, se que siempre puedo contar con ustedes.

A MIS AMIGOS DE LA FESC .

Los Timbis.

Por haber compartido una parte de mi vida porque fueron unos años inolvidables.  
Y porque espero siga nuestra amistad .

A MIS AMIGOS

Jaime, Jorge, Ivo, Janeth, Carlo, Ada, y Diana.

Por haber estado en los momentos que mas los necesite., porque gracias a ustedes pude levantarme. y porque en cada uno de ustedes hay un pedazo del corazón de César.

Gracias por su Apoyo .

A todas aquellas personas ,  
Compañeros y Maestros .

Que de alguna manera contribuyeron  
en mi formación personal y/o académica.

GRACIAS .

AL HONORABLE JURADO

Por haberme dedicado una parte de su tiempo , y por sus valiosos consejos , para el mejoramiento de este trabajo .

A MI DIOS.

Te doy gracias Señor por los padres que me diste, por haberme dejado llegar a cumplir uno de mis grandes anhelos , a ti debo cada uno de mis días , porque cuando todo parece oscuro siempre esta tu luz .

También te doy las gracias porque siempre he tenido a mi lado gente buena y mas de los amigos que puedo contar con una mano y aunque no lo merezco te tengo a ti.



**RESUMEN**

## **RESUMEN**

*De acuerdo a los estudios realizados últimamente sobre vitamina E, se ha determinado una posible acción anticancerosa, debida a sus propiedades antioxidantes, los cuales protegen la fase lipídica de las células del daño oxidativo y a su función como eliminador de radicales libres.*

*El siguiente trabajo comprende el estudio de tres dosis de vitamina E (alfa tocoferol) de:  $1 \times 10^4$ ,  $2 \times 10^4$ ,  $3 \times 10^4 M$ , sobre linfocitos humanos expuestos al mutágeno mitomizina C (MMC) que ha mostrado ser un potente inductor de ICH tanto in vivo como in vitro.*

*El efecto fue evaluado mediante la prueba de intercambio de cromátidas hermanas, ya que es la prueba que mejor evalúa el daño genotóxico, y la más sensible según estudios realizados. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el análisis de varianza de clasificación doble con repeticiones y las diferencias entre las medias se resolvieron con la prueba de rango studentizado de tukey ambas pruebas con  $\alpha = 0.05$ . También se evalúa el efecto de dicha vitamina sobre la proliferación celular en linfocitos humanos y se analizó mediante la prueba de chi cuadrada ( $\chi^2$ ) con  $p > 0.05$ .*

*Encontramos que la vitamina E por sí misma no es genotóxica, ya que no aumenta la frecuencia de ICHs, además ejerció un efecto anti ICH en un rango de dosis de  $1 \times 10^4$  a  $2 \times 10^4$  con un % de inhibición de 16.38 y 80.9% respectivamente, por otra parte no presentó efectos sinérgicos con la MMC en la frecuencia de ICH.*

***En la proliferación celular de los linfocitos humanos (in vitro), la vitamina E modificó de manera significativa la proliferación celular, por ella misma, y asociada a la MMC.***

***ABREVIATURAS***

## **ABREVIATURAS**

***ICH Intercambio de cromátides hermanas***

***MMC Mitomicina C***

***DMSO Dimetil Sulfoxido***

***IR Índice de Replicación***

***DNA Acido Desoxirribonucleico***

***BrdU Bromodesoxiuridina***

***%I Porcentaje de Inhibición***

***INDICE***

## **INDICE**

- **ABREVIATURAS**

- **RESUMEN**

### **I INTRODUCCION**

<i>1.1 Aspectos de la antimutagénesis y anticarcinogénesis</i>	<b>1</b>
<i>1.2 Vitaminas, clasificación y funciones</i>	<b>4</b>
<i>1.3 La Vitamina E</i>	<b>5</b>
<i>1.3.1 Definición, caracterización y función química.</i>	<b>6-12</b>
<i>1.4 El intercambio de Cromátides Hermanas (ICH)</i>	<b>13</b>
<i>1.4.1 Definición y antecedentes de los intercambios de cromátides hermanas.</i>	<b>13-14</b>
<i>1.4.2 Importancia y métodos de estudio.</i>	<b>15</b>
<i>1.4.3 Relación de la vitamina E con los ICH</i>	<b>19</b>
<i>1.4.4 Relación de la Mitomicina C (MCC) con respecto a los ICH</i>	<b>20</b>

### **II OBJETIVO**

<i>II.1 Objetivo General</i>	<b>21</b>
<i>II.2 Objetivos Particulares</i>	<b>21</b>

<b>III</b>	<b>HIPOTESIS</b>	<b>22</b>
<b>IV</b>	<b>MATERIAL Y METODOS</b>	
<b>IV.1</b>	<b>Material utilizado</b>	<b>23</b>
<b>IV.2</b>	<b>Equipo Utilizado</b>	<b>23</b>
<b>IV.3</b>	<b>Material biológico</b>	<b>24</b>
<b>IV.4</b>	<b>Sustancias o Reactivos</b>	<b>24</b>
<b>IV.5</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>25</b>
<b>IV.6</b>	<b>Análisis de resultados</b>	<b>29</b>
<b>V</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>31</b>
<b>VI</b>	<b>DISCUSION</b>	<b>38</b>
<b>VII</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>41</b>
<b>VIII</b>	<b>REFERENCIAS</b>	<b>42</b>





*INTRODUCCION*

## **I. INTRODUCCION**

### ***1.1 Aspectos de la Antimutagénesis y Anticarcinogénesis***

*Desde hace un decenio se reconoce la gran importancia de los factores ambientales en el cáncer humano. El término "factores ambientales" incluye todos los riesgos de origen exógeno, no sólo agentes físicos y químicos extrínsecos, sino también factores del comportamiento como los baños de sol, la dieta, el hábito de fumar y la bebida. El ritmo acelerado de nuestra sociedad tecnológica presenta con frecuencia amenazas potenciales. (Somers. E, 1981).*

*Estamos en una época química, en la cual la aplicación de nuevos productos (combustibles, fertilizantes, aditivos alimentarios, etc), se ha multiplicado en los últimos 30 años. En particular el uso de químicos orgánicos se ha incrementado más de 300 veces. Según cálculos actuales se utilizan en la vida diaria unos 60,000 productos químicos naturales o sintéticos y cada año salen al mercado aproximadamente mil nuevos productos, los cuales, ya sea en su forma original o residual pueden encontrarse en el aire, el agua, los alimentos o el suelo en forma de contaminantes emanados de los procesos de producción o consumo.*

*Maugñ, 1978. Estas sustancias son potencialmente peligrosas para la salud del hombre, sin embargo los ensayos sobre carcinogenicidad sólo se han aplicado a unos 6,000 compuestos. Estudios epidemiológicos indican que el cáncer figura como la segunda causa más importante de defunción para ambos sexos, así como también la primera en cuanto a la pérdida potencial de años de vida en las mujeres. (Canada. 1977).*

*Según el promedio de defunciones anuales y la localización del cáncer, la máxima mortalidad es causada entre los hombres por los cánceres de pulmón, de colon, recto y estómago.*

*El hombre está expuesto a dosis naturales de radiaciones ionizantes, además de las radiaciones cósmicas especialmente para los que viven a gran altitud. La tecnología actual ha propiciado el uso de los rayos X, las emisiones de reactores nucleares y los radionucleótidos en el agua son situaciones que aumentan el riesgo a la salud. Por otra parte se sabe que muchos mutágenos y carcinógenos causan daño oxidativo a la célula y contribuyen a las complicaciones en la patogénesis multifactorial de otras enfermedades. (Marx 1987).*

*En el desarrollo tumoral la activación de oncogenes es un proceso que puede ocurrir después del período de iniciación e influir en las fases avanzadas de la malignidad, en asociación con una extensa proliferación de células adyacentes y al desarrollo de metástasis. Bishop, 1987. Afortunadamente nuestro organismo posee diversos recursos protectores, dirigidos a minimizar las consecuencias por las frecuentes exposiciones a agentes nocivos.*

*De lo antes expresado se concluye que aún no se conoce por completo la estrategia para prevenir el cáncer, sin embargo se ha sugerido la importancia de agentes capaces de inhibir las mutaciones. (De Flora, 1988).*

*Algunos reportes en la literatura se refieren a la prevención de cáncer, y nos dicen que evitando la exposición a factores de riesgo se puede tener más seguridad en cuanto a no*

*contraerlo. Esta prevención primaria está definida como aquellas acciones efectuadas en individuos con buena salud, que eviten la exposición a factores de riesgo, o estimulen los mecanismos de defensa del organismo. La prevención secundaria (prevención temprana), se refiere a la participación de medios de detección e intervención antes del establecimiento de una condición patológica clínicamente aparente, la tercera prevención se propone minimizar el efecto de la enfermedad evitando el desarrollo de complicaciones o recaídas posteriores a la terapia. (Last, 1980).*

*En este esquema las sustancias inhibitorias de la mutagénesis y carcinogénesis son de particular interés porque también colaboran en la prevención del cáncer humano. El propósito de buscar inhibidores de la mutagénesis es descubrir también agentes anticarcinogénicos. El esclarecimiento de los mecanismos de inhibición nos permite inferir la posible actividad anticarcinogénica de los compuestos. Gairns, 1986. En la dieta se conocen algunas sustancias con estas propiedades, como antimutagénicas se encuentran las porfirinas, los ácidos grasos, vitaminas, polifenoles y compuestos sulfidrilos y como anticarcinogénicos las vitaminas A, E y C, compuesto sulfidrilos, grasas, selenio, calcio y la fibra. (Hikoya, 1988).*

## ***1.2 Vitaminas, Clasificación y Funciones***

### ***1.2.1 Clasificación***

*Las vitaminas generalmente se clasifican en: A, C, E, K, D, P y los miembros del complejo vitamínico B: B1 o tiamina, B2 que también se conoce como vitamina G, y la riboflavina, el ácido nicotínico (nicotinamida o niacina) B6 o piridoxina, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico, B12, colina, inositol y ácido para aminobenzoico. (Randolph, 1987).*

*Las vitaminas se clasifican en base a su solubilidad en dos grandes grupos las hidrosolubles y las liposolubles. La función coenzimática de todas las vitaminas hidrosolubles está razonablemente bien conocida con excepción de la vitamina C. Las vitaminas liposolubles, comprenden a las vitaminas A, D, E, y K. Solamente los animales superiores parecen requerirlas de procedencia exógena, no se ha podido establecer todavía claramente el papel esencial de las vitaminas liposolubles, en los vegetales y en los microorganismos. No parece que sirvan de componentes de las coenzimas, sino que actúan por otros caminos que precisan solamente cantidades mínimas de ellas.*

### ***1.2.2 Funciones***

*En 1912 el inglés F. G. Hopkins demostró experimentalmente que los animales necesitan algo más que proteínas, grasa y glúcidos en la dieta para su normal crecimiento. Postuló que uno o más "factores accesorios" presentes en los alimentos naturales eran también necesarios para la nutrición animal. En el mismo año Casimir Funk obtuvo un*

*concentrado de una amina a partir de la cascarilla del arroz, que aliviaba los síntomas del beriberi, enfermedad corriente entonces entre los marineros japoneses limitados a una dieta de arroz molido o descascarillado. De ahí se acuñó el nombre de vitamina, indicativo de amina esencial para la vida y todavía conservamos el nombre en la actualidad, aunque muchas de las sustancias de esta clase no son aminas.*

*Mediante un fraccionamiento sistemático de las fuentes naturales de los factores de crecimiento, y ensayando la potencia de los concentrados sobre el ritmo de crecimiento de los animales, se logró finalmente obtener dichos factores en forma pura, lo cual permitió su identificación química. Además del ritmo de crecimiento y/o los síntomas deficitarios, se emplearon otros criterios tales como la escamosidad de la piel, deslustre del pelo, alteraciones, motrices, etc., para determinar la potencia de los concentrados vitamínicos.*

*Un cambio profundo se produjo a mediados de la década de los años 30 s, en que fueron sintetizadas por primera vez algunas vitaminas (Lehninger, 1982).*

### ***1.3 Vitamina E. Caracterización y Función química***

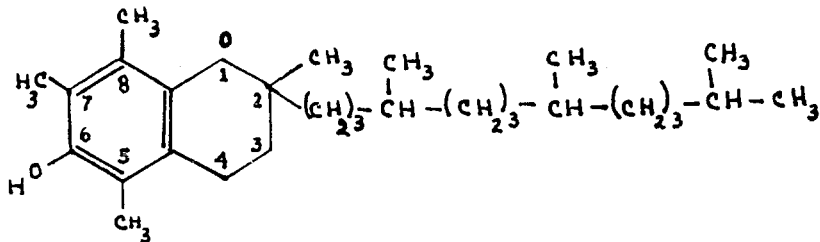
#### ***1.3.1 Caracterización***

*La vitamina E fue conocida como la vitamina de la antiesterilidad desde que se descubrió en 1922 por Evans y Bishop, como el aceite soluble que previene la reabsorción de fetos en ratas hembras y degeneración testicular en machos. La primera historia de la vitamina fue revisada por Evans, 1963, incluyendo el trabajo de Karrer Fernelz, los Emersons, y*

*otros en el aislamiento y síntesis de los compuestos de tocoferol. El nombre tocoferol se derivó del griego Tokos (alumbramiento) y Phero (soportar), pero actualmente se reconoce que su influencia es mayor que la acepción inicial. El grupo de la vitamina E. incluye 2 clases de compuestos derivados del 6-croman-ol. La primera serie de tocoferoles deriva del tocol, el cual contiene 16 carbonos saturados. La segunda serie, los tocotrienoles que contienen una triple insaturación en cada cadena. Cada serie de compuestos difiere sólo en el número y posición de los grupos metil en la estructura. Alfa tocoferoles son los más extensamente distribuidos en la naturaleza y es el más activo biológicamente de los compuestos. Su fórmula se encuentra en la Figura.1*

*La vitamina E se encuentra comúnmente en plantas y está presente en alta concentración en muchos de los aceites de semillas como la soya, semillas de algodón, maíz, girasol y germen de trigo. Los aceites de olivo, coco y cacahuete son bajos en esta vitamina. Los tejidos animales también contienen pequeñas cantidades de vitamina E, que presentan comúnmente en forma de alfa-tocoferol.*

$\alpha$ -Tocoferol  
(5,7,8-trimethyltolcol)



Fórmula Química de la Vitamina E (Alfa Tocoferol).  
(Painter B. Robert. 1980)

Figura 1.



### **1.3.2 Función Química**

*La vitamina E es un producto antioxidante, en parte es protector de otros nutrientes como la vitamina A y los ácidos grasos polinsaturados protegiéndolos de la oxidación destructiva, debida a la exposición de oxígeno molecular. Tal auto-oxidación da como resultado la polimerización de los ácidos grasos insaturados, proceso que es semejante al "secado" del aceite de linaza en las pinturas, para producir un producto, polímero insoluble, tenaz y duro.*

### **1.3.3 Función Biológica**

*Un estudio realizado proporciona información sobre la actividad biológica del tocoferol. Como reabsorción fetal en ratas hembras o degeneración testicular en ratas macho en una dieta escasa en tocoferol. Otro estudio más reciente indica medidas importantes con las cuales el tocoferol puede prevenir la hemólisis de eritrocitos, cuando estos son incubados en ácido dialúrico o peróxido de hidrógeno diluido, el cual exenta de peroxidación lipídica a la membrana del eritrocito.*

*El papel biológico de la vitamina E en sistemas biológicos es todavía controversial. Por lo menos existen tres escuelas de diferentes pensamientos considerando la función bioquímica de la vitamina E. (Wasserman and Taylor 1972).*

*Una escuela sostiene que la función primaria es de un antioxidante y que los síntomas de deficiencia de vitamina E son secundarios, in vivo existe un daño a la estructura celular producida por intermediarios de peroxidación lipídica, esto en ausencia de vitamina E, que da como resultado radicales libres que interactúan con un sitio de la enzima crítica y/o membrana estructural.*

*Otra opinión sobre la vitamina sugiere que los síntomas de deficiencia no pueden explicarse por peroxidación lipídica, y que existe un papel más específico.*

*Un tercer punto de vista abarca las 2 funciones de la vitamina E, como un antioxidante en la prevención de síntomas de deficiencia, y en otros casos de función más específica.*

*En apoyo a la última teoría, Wasserman y Taylor tienen clasificada a la deficiencia de vitamina E, dentro de 2 categorías. Una que responde a la presencia de antioxidantes y también responde a la vitamina E. Otra que responde a la vitamina pero no es afectada por antioxidantes.*

*Los síntomas que responden a los antioxidantes incluyen encefalomalacia, hemólisis eritrocítica in vitro y formación de pigmentos ceroides.*

*Los síntomas que responden a la vitamina E pero no responden a los antioxidantes, incluyen distrofia muscular, en algunas especies, degeneración testicular en ratas y anemia en changos. Esto parece resultar de que las funciones de la vitamina E en ambos sistemas sea como un antioxidante y otra función más específica pero aún no conocida.*

*La delimitación del tocoferol se complica por la variación de la respuesta en diferentes especies que utilizan a la vitamina E, y por la relación de la vitamina E con otros factores de la dieta, algunos síntomas son prevenidos por los compuestos saturados por antioxidantes no específicos, como el selenio o por el sulfuro contenido en cierto aminoácido.*

*Es importante señalar que la mayoría de los síntomas por deficiencia de vitamina E pueden ser prevenidos por un antioxidante no específico. Encefalomalacia y diatesis exudativa en pollos son típicos ejemplos de este fenómeno. Además de la pigmentación ceróide, la coloración amarilla café del tejido adiposo, (Nogichi et. al, 1973).*

*La vitamina E puede actuar dentro de la membrana lipídica de la célula cuando están neutralizados los radicales libres, así previene una auto-oxidación por reacción en la membrana de la cadena lipídica.*

*La anemia en changos parece ser el resultado de una deficiencia de vitamina E, que provoca la destrucción de células rojas por peroxidación de la membrana (Fitch, 1968). En niños con desnutrición caloricoproteica parece presentarse el mismo problema. (Majaj et. al: 1963). Algunas evidencias sugieren un efecto directo de vitamina E en la biosíntesis del grupo hem. (Tappel, 1970).*

*Según Tappel las funciones de la vitamina E incluyen la inhibición de la peroxidación lipídica. Así como explican el papel de la vitamina E en la síntesis del grupo hem pero todavía esta por comprobarse. (Tappel, 1969).*

#### ***1.3.4 Antimutagenicidad***

*Epidemiológicamente se ha encontrado una relación inversa entre la frecuencia del cáncer de mama y pulmón con la concentración de la vitamina E en el suero. Además se ha asociado una concentración alta de alfa tocoferol en el plasma con reducción de la mortalidad total por cáncer (Salked, 1986, and Wald Borehan J. 1984).*

*A partir de los estudios de laboratorio, se aprecia que la posible acción anticancerosa de la vitamina E se debe a sus propiedades antioxidante, lo cual protege la fase lipídica de las células del daño oxidativo, y a su función como eliminador de radicales libres. (Wald, 1984).*

#### ***1.3.5 Metabolitos de la Vitamina E***

*Muy poco se conoce de la ruta metabólica de vitamina E. La formación de un dímero y un trímero en ratas y un pigmento en hígado se ha mencionado como el resultado de la oxidación de alfa-tocoferol. Ningún compuesto evidencia la actividad de vitamina E, pero ellos se forman en tejidos animales, la administración oral del dímero sintético indica la absorción extremadamente pobre en el lumen intestinal (Csallany y Draper, 1963; Draper et al., 1967).*

*Se han identificado dos metabolitos menores de la vitamina; alfa tocoferol-p-quinona, que se encontró en hígado de rata y tejido adiposo, posterior a la administración de dosis masiva de vitamina E. Es posible que este compuesto se forme vía alfa-tocopherol quinona que es por si mismo un metabolito menor de la vitamina, el cual es excretado particularmente por heces (Cassallany et. al 1962).*

### **1.3.6 Toxicidad de la vitamina E.**

*La evidencia sugiere que la vitamina E tiene un bajo nivel de toxicidad en el humano. (Hillma, 1957), esto tiene relación con la hipervitaminosis, en pollos, a los que se les administró. Los estudios mostraron depresión en el crecimiento, en calcificación, en los niveles hematocritos y de mitocondria de músculo esquelético, así como incremento en los tiempos de protrombina. Los efectos en la calcificación ósea y el tiempo de protrombina sugieren que los requerimientos de vitamina D y K se incrementaron por la hipervitaminosis de vitamina E. (March et. al. 1973).*

*En diferentes enfermedades se proporcionan grandes dosis de vitamina E, como son las enfermedades del corazón, la infertilidad o la distrofia muscular, pero esto no es suficiente para recomendar suplementos excesivos de la vitamina E. Committes en Nutritional Misinformation, 1973; Olso 1973, por el contrario sugirieron que es necesario revalorar la posibilidad de efectos adversos en el hombre, a la luz de los resultados observados en sobredosis de vitamina E en pollos.*

#### ***1.4 El Intercambio de cromátidas hermanas (ICH)***

##### ***1.4.1 Definición y Antecedentes de los ICH***

*Como método de evaluación usaremos el estudio del intercambio de cromátidas hermanas. Este aspecto como su nombre indica se refiere al intercambio de segmentos simétricos y equivalentes entre las cromátidas de un mismo cromosoma (Mc Clintock 1938). Figura 2.*

*En 1957, J. Herbert Taylor y sus colegas en los departamentos de Biología y Medicina en el laboratorio Nacional de Brookhaven publicaron una contribución demostrando la existencia de intercambio de cromátidas hermanas detectado citológicamente en plantas, mediante la incorporación de tünidina tritiada en la replicación del DNA. Al año siguiente Taylor publicó la primera contribución que examina los eventos moleculares en la formación de ICH. Todavía 25 años después, científicos interesados en el significado y utilidad de este fenómeno continúan propiciando su expansión.*



*Intercambios de cromátides hermanas. Sencillos, dobles y triples en cromasomas de ratón (Morales P. 1988).*

**Figura 2.**

#### ***1.4.2 Importancia y método de Estudio de los ICH***

*La formación de ICH tiene relación con otros fenómenos biológicos incluyendo, carcinogenesis, mutagénesis, transformación, clastogénesis, daños al DNA, reparación y toxicidad celular, que son aspectos ampliamente estudiados en la toxicología genética, que utiliza exposiciones in vitro e in vivo aprovechando numerosos tipos celulares, incluso de origen humano. El ICH tiene relevancia como indicador de exposición a agentes genotóxicos.*

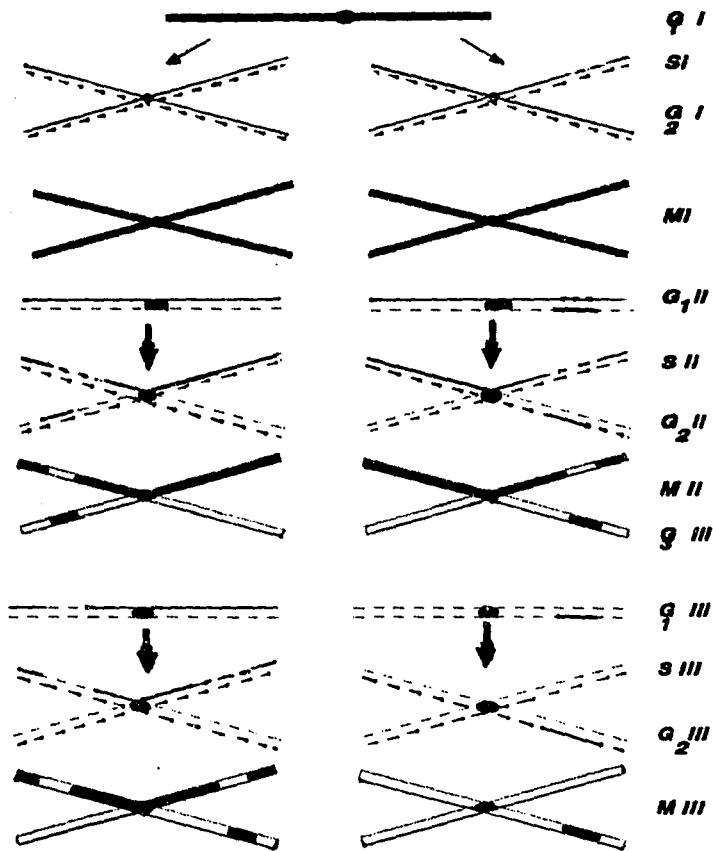
*Los esfuerzos autorradiográficos iniciales realizados por H. Kato 1974, demostraron diversos mutágenos como inductores de ICH, sin embargo hasta que Latt introdujo en 1973 el uso de la bromodesoxiuridina, la técnica tuvo auge y mostró su potencial para estudiar mutágenos. En este interés contribuyeron manera especial los estudios efectuados por (Latt en 1975).*

*El análisis de los ICH se considera un ensayo para determinar el efecto genotóxico de diversas sustancias. Hay evidencia de que para muchos agentes, el estudio de los ICH proporciona un índice más sensible para detectar el daño genético. Por esto el Comité de Genética Toxicológica de Estados Unidos lo ha incluido como un sistema prueba. (Latt, 1981).*



*En México, P. Morales Ramírez ha usado con éxito la BrdU absorbida en carbón activado, como un medio para poner de manifiesto el ICII en ratones. Anteriormente se hacía uso de inyecciones múltiples o la infusión continua para incorporar la BrdU. (Raymond 1984).*

*El método se basa principalmente en incorporar bromo-desoxiuridina al DNA, cuando menos en el primero de dos ciclos de división sucesivos, y en analizar los cromosomas al microscopio de fluorescencia, después de teñirlos con bisbencimida, posteriormente se desarrolló una técnica que permita teñirlas con Giemsa y observarlas al microscopio de campo claro. (figura 3) Wolf and Perry 1974; (Goto et. al 1975).*



**Fig. 3** Esquema del ciclo celular donde los cromosomas se encuentran en 1a, 2a y 3a división respectiva. (Lamber Bo. 1976)

*Recientemente se han desarrollado métodos basados en la tinción diferencial de las cromátidas hermanas con anticuerpos anti-BrdU que son útiles incluso para incorporaciones muy bajas de BrdU. (Vogelct. al, 1986).*

*Las pruebas indican que las lesiones en el DNA son responsables de la inducción de los ICH, aunque no se sabe cual es el mecanismo involucrado. También se ha señalado que la mayor parte de los mutágenos conocidos son capaces de aumentar notablemente la frecuencia de ICH, (Morales P., 1983).*

*La formación de los ICH se lleva a cabo en la etapa de síntesis de DNA Wolff, 1974, y se ha propuesto que ocurre donde se bifurca la doble cadena del DNA durante el proceso de duplicación. Es factible que las lesiones que no se reparan antes de la síntesis del DNA sean las causantes de los ICH. (Kato H., 1980)*

*Independientemente del interés científico que suscita el estudio del fenómeno de los ICH como un indicador de la respuesta celular al daño producido en el DNA, el análisis de este fenómeno puede aprovecharse para la detección del potencial mutagénico de las sustancias a las que por diferentes razones está expuesto el ser humano. (Latt, 1976).*

### ***1.4.3 Relación de la Vitamina E con los ICH***

*En algunos estudios se ha puesto de manifiesto la acción anticarcinogénica de la vitamina E, en un intento de entender como es que se realiza este efecto protector. Evaluándose la capacidad antimutagénica de la vitamina E, a través del ensayo del ICH inducidos por un mutágeno de acción reconocida. En el caso de encontrarse una efectiva acción anti-ICH, por parte de la vitamina E, se presumiría que tal vez su acción anticarcinogénica involucra un evento antimutagénico y que no solamente se debe a la acción antioxidante sobre los componentes membranales. (Beckman C. et.al, 1982).*

*Actualmente se conoce el daño que producen gran número de agentes al DNA, también se ha observado que causan un significativo incremento en la frecuencia de ICH, comúnmente a dosis bajas: lo cual en ocasiones se correlaciona con un apreciable incremento en las aberraciones cromosómicas.*

*La validez del análisis del ICH como una prueba sensitiva y conveniente para detectar mutágenos y carcinógenos se ha investigado in vitro, e in vivo, usando diferentes tejidos y distintos animales intactos, (Latt, 1979).*

*Los ICH son usados para detectar los efectos de los clastógenos y para diferenciar la frugilidad de los cromosomas en las enfermedades.*

#### ***1.4.4 La Mitomicina C (MMC) con respecto a los ICH***

*Con relación a este compuesto que induce gran número de ICH, en un experimento realizado con seis carcinógenos inductores de ICH, en linfocitos humanos se observó que la MMC es un potente clastógeno e inductor de ICH a las 24 hrs. de exposición. (Craig, H. et. al. 1977).*

*Los intercambios son mucho más frecuentes que las rupturas cromosómicas o de cromátides por ejemplo en estudios in vitro se observa un incremento significativo de la frecuencia de ICH con tan solo 3 ng/ml de MMC. En cambio las aberraciones cromosómicas son menos frecuentes, 100 veces menores en comparación con los ICH.*

*También se ha demostrado que la MMC induce una clara relación dosis-respuesta. La MMC fue elegida para esta investigación por su marcado efecto sobre el DNA celular, además de que la molécula está ampliamente caracterizada en sus aspectos químicos y biológicos.*

*A partir de los ICH se puede obtener información importante sobre el daño a los cromosomas, ya que nos permite una sensible detección del daño al DNA. (Samuel Latt 1974).*

## *OBJETIVOS*

## **II. OBJETIVOS**

### **II.1 Objetivo general**

*Determinar el efecto de la vitamina E, sobre los intercambios de cromátides hermanas en un cultivo de linfocitos humanos.*

### **II.2 Objetivos Particulares**

*II.2.1 Observar la variación que sufren los ICH por inducción de diferentes dosis de vitamina E, aplicados *in vitro* ante una dosis determinada del mutágeno MMC.*

*II.2.2 Analizar la posible modificación de la proliferación celular que puede surgir en un cultivo de linfocitos humanos expuestos a MMC y a diferentes concentraciones de vitamina E.*

*II.2.3 Determinar si la vitamina E y la MMC poseen juntas un efecto co-mutagénico, sobre la frecuencia de ICH *in vitro*.*

*HIPOTESIS*



### **III. HIPOTESIS**

***La vitamina E tiene un efecto inhibidor de la producción de ICH ocasionados por la Mítomicina C.***

## ***MATERIAL Y METODOS***

## **IV. MATERIAL Y METODOS**

### **IV.1 Material Utilizado**

**-Frascos de cultivo celular estériles con tapa de hule.**

**-Pipetas pasteur (estériles)**

**-Pipetas de 1 ml. graduadas**

**-Pipetas de 5 ml. graduadas**

**-Micropipetas y puntas para micropipetas estériles**

**-Jeringa de 10 ml. (estériles)**

**-Tubos para centrífuga**

**-Perillas de goma**

**-Equipo de filtro millipore**

**-Matraz erlenmeyer de 250 ml.**

**-Bureta de 100 ml.**

**-Portaobjetos, cubreobjetos y pinzas**

### **IV.2 Equipo Utilizado**

**-Autoclave**

**-Refrigerador**

**-Campana de flujo laminar**

**-Horno**

**-Estufa de 37°C.**

**-Cámara de luz negra**

**-Vórtex**

**-Termómetro**

### **IV.3 Material Biológico**

*Se trabajó con sangre entera obtenida por venopunción de un donador sano, que no fumó y no ingirió sustancias alcohólicas ni medicamentos con anterioridad de 3 meses a la prueba.*

### **IV.4 Sustancias o Reactivos**

**IV.4.1** Medio de cultivo McCoy 5a. modificado.

**IV.4.2** Fitohemaglutinina estéril, agregar por cada frasco de cultivo 0.3 ml.

**IV.4.3** Colchicina (Solución al 0.04%).

**IV.4.4** 5-Bromodesoxiuridina (Solución de 4 mg/ml.)

**IV.4.5** Colorante Hoescht 33258 (Solución a una con c. de 100 g/ml.)

**IV.4.6** Suspensión de vitamina E (Gelcaps al 98% $\alpha$ -tocoferol).

### **Preparación de la Suspensión de Vit. E**

*A.0.1 ml. de la vitamina E líquida se le agrega con agitación constante 0.1 ml. de dimetil sulfóxido (DMSO), y se lleva a un aforó de 10 ml. con H<sub>2</sub>O destilada, posteriormente se esteriliza por autoclave en condiciones normales.*

*La suspensión corresponde a 3.15M de vitamina E. De esta suspensión se toman las alícuotas correspondientes para obtener las concentraciones de:*

*1 x 10<sup>-6</sup>, 2 x 10<sup>-6</sup>, 3 x 10<sup>-6</sup>. M*

*IV.4.7 Mítomicina C (MMC). Solución a una concentración de 1.5 X 10<sup>-6</sup>M. De esta solución se agregó a cada frasco un volumen constante de 50 ul.*

#### *IV.5 Procedimiento*

*Se procede a la siembra de 16 frascos de cultivo a las cuales se les agregó 8 ml. de Medio Mc Coy Sa. modificado, 0.3 ml de Fitoheماغلوتinina, y 0.5 ml. de sangre venenosa heparinizada. Se homogenizó a la mezcla y se incubó por 72 hrs., a 37°C.*

*A las 24 hrs., se agregaron vitamina E, BrdU, y MMC según las dosis correspondientes para cada frasco. Se distribuyeron de la siguiente forma:*

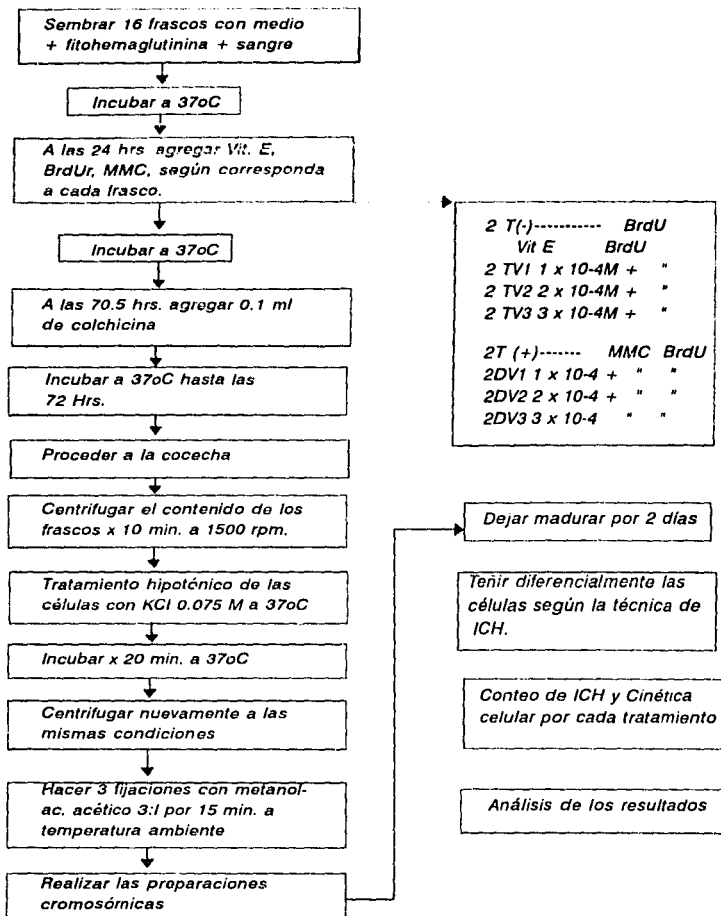


Figura 4.  
 Diagrama de Flujo de procedimiento

<b>Fco.de cultivo</b>	<b>Vitamina E (conc)</b>	<b>Solución MMC</b>	<b>Solución Brd-U</b>
<i>testigo (-)</i>	<i>no tiene vitamina E</i>	<i>ninguna</i>	<i>45 ul.</i>
<i>testigo de vit.</i>			
<i>E (TV)</i>	<i>1 x 10<sup>6</sup></i>	<i>ninguna</i>	<i>45 ul.</i>
<i>testigo de vit.</i>			
<i>E (TV)</i>	<i>2 x 10<sup>6</sup></i>	<i>ninguna</i>	<i>45 ul.</i>
<i>testigo de vit.</i>			
<i>E (TV)</i>	<i>3 x 10<sup>6</sup></i>	<i>ninguna</i>	<i>45 ul.</i>
<i>testigo (+)</i>	<i>no tiene vitamina E</i>	<i>50 ul.</i>	<i>45 ul.</i>
<i>dosis de vit. E</i>			
<i>(DV)</i>	<i>1 x 10<sup>6</sup></i>	<i>50 ul.</i>	<i>45 ul.</i>
<i>dosis de vit. E</i>			
<i>(DV)</i>	<i>2 x 10<sup>6</sup></i>	<i>50 ul.</i>	<i>45 ul.</i>
<i>dosis de vit. E</i>			
<i>(DV)</i>	<i>3 x 10<sup>6</sup></i>	<i>50 ul.</i>	<i>45 ul.</i>

*Las dosis de vitamina E se escogieron de acuerdo al estudio realizado por (Gerhart y Wagner 1985).*

*Después de agregar las soluciones anteriores nuevamente se deja con la incubación completar las 71 hrs., al término de las cuales se agregó 0.1 ml. de colchicina y se continuó con la incubación durante 1 hora más .*

*Al término de las 72 hrs., se procedió a realizar la cosecha de linfocitos. Para lo cual se vierte el contenido de los frascos a tubos de centrifuga, limpios y secos. Centrifugar por 10 min. a 1500 rpm., posteriormente eliminar el sobrante y resuspender el botón celular con 7ml de KCL. 0.075 M a 37°C de temperatura por cada tubo. Incubar por 20 min. a 37°C, al término, volver a centrifugar 10 min. a 1500 rpm. y eliminar el sobrenadante, resuspender el botón celular con metanol 3:1 ácido acético para proceder a la fijación. Dejar reposar por 15 min., a temperatura ambiente, repetir la operación otras dos veces.*

*Con esta suspensión celular se realizaron las preparaciones cromosómicas correspondientes para cada tubo. Del contenido de cada tubo se gotea parte de este en los porta-objetos limpios y secos. Se dejan madurar las laminillas por 2 días y se procede a teñir diferencialmente las células de acuerdo a la técnica de Goto modificada que se describe a continuación. (Goto and Cols, 1975).*



#### **IV.6 Tinción de Laminillas**

- 1) Se sumergen las laminillas en una solución de bisbenzimidá (Hoechst 33258) a una concentración de 100 ug/ml. en agua destilada durante 40 min.**
- 2) A continuación se lavan las laminillas con agua destilada y se secan en el horno de 60°C durante 15 min.**
- 3) Una vez secas, se montan en solución reguladora de fosfato citrato, pH = 7, con un cubreobjetos, para así ser expuestas durante 40 min., a la luz negra (luz ultravioleta cercana 1 x 10' cm.), a una distancia de 2 cm.**
- 4) Enseguida se enjuagaron con agua destilada y se secaron en el horno nuevamente a 60°C por 15 min.**
- 5) Posteriormente se incubaron en solución salina-citrato (2xSSC) a 60°C durante 20 min.**
- 6) Finalmente se enjuagaron con agua destilada y se secaron en el horno a 60°C durante 15 min., y se tñieron con colorante Giemsa al 2% en solución buffer de fosfatos con un pH = 6.4.**

## ***RESULTADOS***

#### **IV.7 Análisis de los Resultados**

*Posteriormente se realizó el análisis de resultados, se observaron los ICH por cada dosis y cada testigo. Así como la cinética celular de los mismos.*

*Por cada dosis y testigo se realizó el análisis cromosómico correspondiente en el microscopio de campo claro. Se analizaron 30 metafases de segunda división por dosis para el conteo de ICH.*

*También se obtuvo la cinética celular a partir de las primeras 100 metafases de 1a., 2a. y 3a. división por dosis para calcular el índice de replicación (I.R.), que permite determinar el grado de proliferación celular.*

$$I.R. = IM1 + 2M2 + 3M3 / 100$$

*Donde: M1, M2 y M3 representan los % de metafases de 1a., 2a. y 3a. división respectivamente.*

*El análisis estadístico de los datos se realizó por medio de un Análisis de varianza (ANDEVA), de clasificación doble con repeticiones y la prueba de rango studentizado de Tukey con un  $\alpha=0.05$ .*

#### **V. RESULTADOS**

*Se obtuvieron los siguientes resultados:*

*El análisis de varianza de la frecuencia de ICH mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre las dosis y los tratamientos empleados  $\alpha=0.05$ . Además comprobó que la interacción entre la dosis de Vit E y la mitomicina produjo diferencias estadísticamente significativas  $\alpha=0.05$  (Tabla 1).*

*Con la prueba de Tukey se pusieron de manifiesto las diferencias entre las medias que como puede observarse en Tabla 2, son las correspondientes a los tratados De  $Vit E^1 + MMC$  y  $Vit E^2 + MMC$  con respecto al testigo positivo (mutágeno).*

*Como puede observarse este efecto depende de la dosis y si modifica la acción mutagénica de MMC y pone de manifiesto que existe interacción entre los 2 compuestos.*

*Al comparar los testigos de vitamina E con valores de 9.1, 11.9 y 8.8 ICH/célula y el T (-) (10.7 ICH/célula), no se observaron diferencias estadísticamente significativas con la Prueba de Tukey  $\alpha = 0.05$ . Por lo tanto, la vitamina E se puede considerar como no genotóxica. Tabla 1.*

*Al comparar los promedios de ICH de los tratamientos que fueron 18.13, 13.7, 22.6 ICH/célula con respecto al T (+) (21.6 ICH/célula), se observó que la vitamina E actúa disminuyendo los ICH con las dosis D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> donde existe una diferencia estadísticamente significativa, lo que no sucede en la dosis D<sub>3</sub>, donde los ICH no disminuyeron. Se obtuvo un % de inhibición de 16.38% para la D<sub>1</sub> y un 80.9% para la D<sub>2</sub>, la más efectiva. Tabla 2.*

*En la Cinética Celular se observó:*

*Que la vitamina E disminuyó de manera significativa la proliferación celular con respecto al T (-), tanto en los testigos de vitamina E como en las dosis probadas, esto también se explica con el I.R. Por lo que se observa que la vitamina E más la MMC no producen efecto sinérgico en la proliferación celular comprobado con la prueba chi cuadrada  $p > 0.05$ .*

**TABLA 1. Efecto de la Vitamina E sobre la frecuencia del intercambio de cromátides hermanas inducidos por la mitomicina-C (MMC) in vitro.**

Tratamiento	Dosis de VR E (M)	No. de Células	Media ICH	e.e	Inhibición %
T (-) Testigo	0	30	10.7	0.761	
TV1 (VE)	1 x 10 <sup>-4</sup>	30	9.1	0.374	
TV2 (VE)	2 x 10 <sup>-4</sup>	30	11.9	0.569	
TV3 (VE)	3 x 10 <sup>-4</sup>	30	8.8	0.624	
T (+) (MMC)		30	21.5	9.967	
D1 (VE+MMC)	1 x 10 <sup>-4</sup>	30	* 18.13	0.75	16.30
D2 (VE+MMC)	2 x 10 <sup>-4</sup>	30	* 13.96	0.839	80.9
D3 (VE+MMC)	3 x 10 <sup>-4</sup>	30	21.6	1.569	0.0

\* Diferencia estadísticamente significativa ANDEVA y prueba Tukey  $\alpha=0.05$  con respecto al valor de MMC

$$\% \text{ de Inhibición} = 100 - \frac{X \text{ ICH debidos al tratamiento} \times 100}{X \text{ ICH debidos al mutágeno}}$$

M - Molar

e.e. - error estandar

**TABLA 2. Análisis de varianza efectuado a las Frecuencias ICH  
 producidas por la vitamina E y la mitomicina C  
 (Alfa = 0.05)**

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>"F" calculada</b>	<b>"F" de tablas</b>
<i>Modelo</i>	7	5669.71	809.96	43.99	0.001
<i>Error</i>	221	4069.37	18.413		
<i>Totales</i>	228	9739.08			

**TABLA 3. Efecto de la Vitamina E (VE) y la mitomicina C (MMC) proliferación celular (CPK) in vitro.**

Tratamientos	Dosis	CPK (%)			IR
		M1	M2	M3	
T (-) Testigo	0	45	49	6	1.61
TV1 VE	1 x 10 <sup>-4</sup>	40	39	21	1.81
TV2 VE	2 x 10 <sup>-4</sup>	41	43	16	* 1.32
TV3 VE	3 x 10 <sup>-4</sup>	47	38	15	1.68
T (+) MMC		53	37	10	* 1.37
D1 VE+MMC	1 x 10 <sup>-4</sup>	60	39	1	* 1.41
D2 VE+MMC	2 x 10 <sup>-4</sup>	62	32	6	* 1.44
D3 VE+MMC	3 x 10 <sup>-4</sup>	61	30	9	* 1.48

M1, M2 y M3 = frecuencia de células en primera, segunda y tercera división.

$$IR = M1 + 2 M2 + 3 M3 - 100$$

\*Estadísticamente significativo con respecto al testigo.

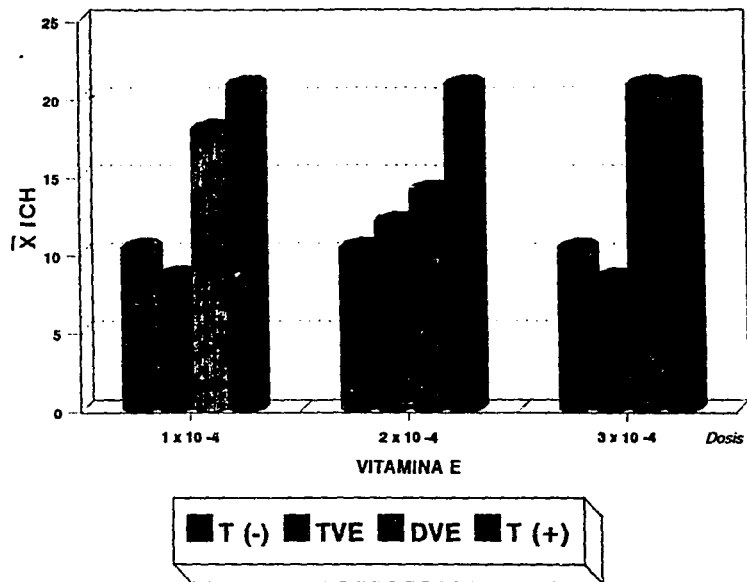
Prueba de Xi cuadrada (alfa = 0.05)

**TESIS SIN PAGINACION**

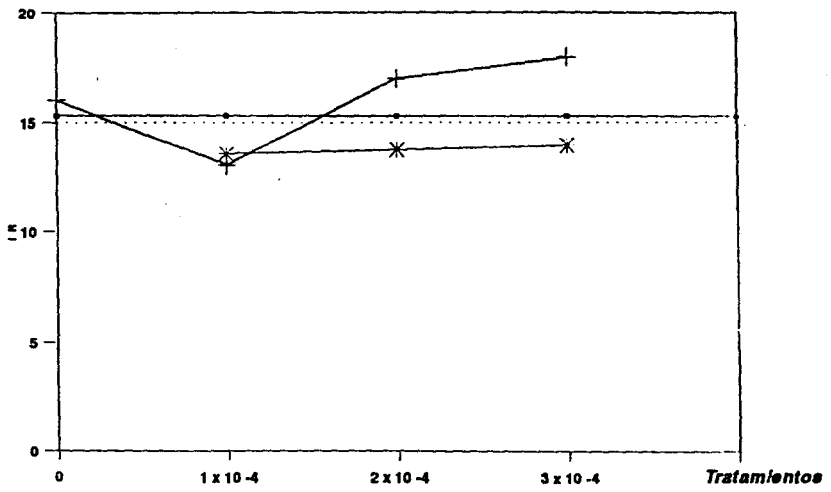
**COMPLETA LA INFORMACION**



### VIT. E Frecuencia de ICH en relación con el tratamiento utilizado



### El IR en relación al tratamiento utilizado





*DISCUSSION*

## VI. DISCUSION

*No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el control negativo y los testigos de vitamina E, por lo que se puede concluir que la vitamina E por sí sola no produce un incremento en la frecuencia de ICH.*

*Con respecto a la actividad anti-ICH de la vitamina E, al comparar los tratamientos de la vitamina contra el mutágeno usado como testigo positivo, la mitomicina C, observamos una reducción en el número de ICH, como puede observarse diferencia estadísticamente significativa con respecto al testigo (+) en los tratamientos 1 y 2 (DV<sub>1</sub>) y DV<sub>2</sub>), sin embargo esta diferencia no se presentó con el tratamiento 3 (DV<sub>3</sub>). El hecho de que esta última dosis sea la más alta utilizada nos sugiere que la acción antígeno tóxica se ubicó entre la concentración  $1 \times 10^4$  y  $2 \times 10^4$ , con un porcentaje de inhibición de 16.38% y 80.9% respectivamente. Donde la concentración DV<sub>3</sub> alcanzó el máximo efecto de inhibición. Sería recomendable ampliar, estudiar el intervalo de dosis, con el objeto de determinar con más precisión por que el efecto se pierde, y si éste es progresivo o no.*

*Con respecto a la cinética celular, se observó un retraso en el ciclo de proliferación celular, en los cultivos con los tratamientos de vitamina y mitomicina que estadísticamente es similar al comportamiento que exhibe el mutágeno por sí solo. Por lo que concluimos que no existe efecto sinérgico de la vitamina E con la mitomicina C.*

*La acción de la vitamina E como antimutágeno se ha estudiado in vitro contra otros agentes, como en el trabajo de Gebhart y Wagner en 1985, el cual utiliza como agentes clastogénicos Blcomicina (BM), ciclofosfamida (CP) y trenimon (TR), como anticlastógenos utiliza las vitaminas C y E. En dicho trabajo, además de evaluar los ICH, se estudia el daño cromosómico y se concluye que las dos vitaminas inhiben la función clastogénica de TR y CP ya que a la BM no la afectan. El efecto de la disminución de la frecuencia fue significativo en este experimento, a diferencia de el presente trabajo donde si hubo actividad anti-ICH aunque el efecto se encuentra en un intervalo limitado.*

*En cultivos celulares y Drosophila in vivo, también se observó efecto antimutagénico de la vitamina E contra dimetil benzantreno. Beckman C., Royand R.M., Sproule A., 1982. En micro-organismos como Salmonella thyphimurium tratados con aflotoxina se observó un potente efecto inhibitorio, Raymond J., Frances F., 1973. Estos datos nos indican que la vitamina E puede tener un amplio espectro de acción antigenotóxica si cumple determinadas condiciones experimentales, ya que actúa en un rango de concentración limitado.*

*Sobre la vitamina C y E existen estudios in vivo e in vitro realizados en el laboratorio de Genética de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, con un enfoque similar al nuestro, al comparar los datos primeramente con la vitamina E in vivo, se observó que son muy similares a los obtenidos in vitro en el cual la vitamina por sí sola no es genotóxica, y el efecto anti-ICH existe aunque fue muy leve in vivo.*

*Por el contrario, en los trabajos de vitamina C se tiene una acción antígeno-tóxica más alta que la que proporciona la vitamina E. La vitamina C presenta un alto efecto anti-ICH, por lo que se puede decir que tiene una buena función de antimutagenicidad.*

*También la vitamina C produce modificación en el ciclo celular comparativamente con vitamina E, pero no se sabe si este efecto es por la citotoxicidad del mutágeno, efectos sinérgicos, o por la acción protectora de las vitaminas.*

*De dicha comparación se desprende que ambas vitaminas son inocuas desde el punto de vista genotóxico.*

*Como la relación entre antimutagénesis y anticarcinogénesis es estrecha, cuando un agente es efectivo en alguna acción es conveniente determinar su efecto en la otra. La vitamina E se ha demostrado que tiene un carácter antioxidante que es una útil propiedad para la acción inhibitoria de la mutagénesis, también existen evidencias sobre su potencial para inhibir el crecimiento tumoral o bloquear la formación de carcinogénesis. (Sívio de Flora, 1988).*

*Los datos anteriores nos hacen suponer que la vitamina E podría usarse en el futuro, como un coadyuvante en la prevención y control de problemas relacionados en la mutagénesis-carcinogénesis, sin embargo todavía es indispensable conocer una serie de elementos relacionados con su actividad, como la interacción con otras sustancias, su especificidad antimutagénica y el intervalo en que actúa, con lo que podría establecerse una terapéutica más concreta para su uso.*

## ***CONCLUSIONES***

## **VII CONCLUSIONES**

- *La vitamina E no produjo por sí sola, un incremento estadísticamente significativo de los ICHs con respecto al control negativo, con ninguna de las dosis probadas. No obstante, si modifica la cinética de proliferación celular.*
- *Las concentraciones utilizadas de vitamina E correspondientes a  $1 \times 10^4$  y  $2 \times 10^4$  mg/ml produjeron una inhibición de los ICHs inducidos por la MMC del 16.38 y 80.9% respectivamente. Y la cinética de proliferación celular se observa que sufrió un retraso estadísticamente significativo con respecto al control negativo.*
- *No se observó efecto sinergista de la vitamina E sobre la MMC: ni siquiera en la dosis donde no existió acción inhibitoria.*



## ***REFERENCIAS***

## VIII REFERENCIAS

- Barna, Lloyd, G. *Letters*. 1978. *Environmentally caused cancer*. *Science*. 202: 469.
- Beckman C., Royand R. M. Sproule. 1982. *Modification of radiation-induced sex-linked recessive lethal mutation frequency by tocopherol*. *Mutation Research*. 105: 71-73.
- Bernhard H et.al. 1989. *Protective Effects of vitamin E in Age-Related Endothelial Cell Injury*. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 59: 273-279.
- Bishop, J. M. 1987. *Science* 235: 305-311.
- Brendel, M. y Rohland A. 1984. *Relation ships between functionality toxicology of selected DNA: domaging agents*. *Mutation Research*. 133: 54-85.
- Cairns, J. et. al. 1986. *Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanisms*. Plenum Press, New York. 531-535.
- Canadá 1977. *Departamento Nacional de Salud y Asistencia Social. Cancer patterns in Canada, 1931-1974*. Ottawa. 246
- Craig-Holnes, Ann P, and Margery W. 1977. *Effects of six carcinogens on SCE frequency and cell kinetics in cultured human lymphocytes*. *Mutation Research*. 46: 375-384.

384.

-Daniel G., Stetka y Sheldon Wolff 1976. Sister Chromatid exchange as an assay for genetic damage induced by mutagens-carcinogens. II in vitro test for compounds requiring metabolic activation. *Mutation Research*. 41: 343-350.

-David Kram, Edward. L, Sheneider, Gerhard. 1979. Spontaneous and mitomycin-C induced Sister Chromatid Exchanges. *Mutation Research*. 66: 339-347.

-David Kram, Gaither. D, Bynum, Roger. D. 1981. Effects of Dute and Chronic administration of mitomycin-C on the induction of Sister Chromatid Exchanges. *Enviromental Mutagenesis*. 3: 489-495.

-De Flora S., and C. Ramel. 1988. Mechanisms of Inhibitors of Mutagenesis and Carcinogenesis. Clasification and overview. *Mutation Research*. 202: 285-306.

-De Flora Silvio. 1988. Problems and prospects in Antimutagenesis und carcinogenesis. *Mutation Research*. 202: 279-283.

-Friedrich, K., Zimmerman. 1982, Can we determine mutagenicity or only a mutagenic potential. *Mutation Research*. 92: 3-7.

-Gerbhart, E., Wagner, H. 1985. The action anticlastogens in human lymphocyte cultures and their modification by rat liver S9 mix. *Mutation Research*. 149: 83-94.

*-Gunter, Speit and Walther Vogel. 1986. Detection of bromodeoxyuridine antibody. Chromosoma (Berl). 94: 103-106.*

*-Gwen, E., Guglielmi, Thomas, F. Vogt, y Raymond, R. 1982. Induction of Sister chromatid exchanges and inhibition of cellular proliferation in vitro. I., Caffeine. Environmental Mutagenesis. 4: 191-200.*

*-Goto Keiko, T. A. Kemotsu, H. Shimazu and Sgiyama. 1975. Simple differential giemsa staining of sister chromatid after treatment with photosensitive dyes and exposure to light and the mechanism of staining. Chromosoma (Berl). 53: 223-230.*

*-Hatao Kato. 1977, Mechanisms for Sister Chromatid Exchanges and their relation to the production of chromosomal aberrations. Chromosoma. 59: 179-191.*

*-Higginson J. y C.S. Muir. 1976. The role of epidemiology in elucidating the importance of Environmental in human cancer. Cancer Detect Prev. 1: 79-105.*

*-Hikoya, H., Sakae. A. Tomoe N. 1988. Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Mutation Research. 202: 429-446.*

*-Ivona Kodytkova, J. Madar. R. J. 1980. Chromosomal Aberrations in mouse bone marrow cells and antibody production changes induced by long-term exposure to cyclophosphamide and -tocopherol. Folia Biologica (Praha). 26.*

- Karehisa Morimoto, Mayumi Sato-Mizumo y Dkira Koizumi. 1985. *Sister-chromatid exchanges and cell-cycle kinetics in human lymphocyte culture exposed to alkylating mutagens: aparent deformity in dose-response relationships. Mutation Research. 152: 187-196.*
- Kato H. 1979. *Induction of sister chromatid exchanges by chemical mutagens and its possible relevance to DNA repair. Exp. Cell. Res. 85: 239-247.*
- Kato H. 1980. *Evidence that the replication point is the site of sister chromatid exchange. Cancer Genetic and Cytogenetics. 2: 69-77.*
- Lambert Bo. 1976. *Bromodexyridine-induced sister chromatid exchanges in human lymphocytes. Hereditas. 83: 163-174.*
- Last. J. M. P. L. Sartwell, J. Chin and I.J. Selikoff 1980 (Eds.), *Public Health and Preventive Medicine, 11th edn. (Maxcy-Rosenav). Appleton-Century-Crofs. New York. 3-8.*
- Latt S.A.1973.*Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human methaphase chromosomes. Proc. Natl. Acad. Sci. 70: 3395-3399.*
- Latt. S. A. 1974. *Sister Chromatid Exchanges, indices of human chromosome damage and repair.Detection by fluorescences and induction by milomycin C. Proc. Nat. Acad. Sci. 71, No. 8: 3162-3166.*

- Latt S. A. and Juergens, L. 1976. Determinants of sister exchange frequencies in human chromosomes. *In Population Cytogenetics*. 217-236.
- Latt S. A. 1979. In vitro and in vivo analysis of sister chromatid exchange. *Pharmacological Reviews*. 20, No. 4:501-535.
- Latt S. A., J. Allen S. E, Blom. 1981. Sister Chromatid Exchanges: a report of the genetox program. *Mutation Research*. 87: 17-62.
- Lehninger A. L. *Bioquímica - Vitaminas y Coenzimas*. Ed. Omega Barcelona, segunda edicion. 341-343. 1982.
- Linus Pauling, Jon C. Nixon, Fred Stitt. 1985. Effect of dietary ascorbic acid on the incidence of spontaneous mammary tumors in RIII mice. *Proc Natl Sci*. 82: 5185-5189.
- Marx, J. L. 1987. *Science*. 235: 529-531.
- Maugh T. H. 1978. *Cancers: How many are there?*. *Science* 162-169.
- Mc. Clintock. 1938. The production of homosygous deficient tissues with mutant characteristics by means of the aberrant mitotic behavior of ring-shaped chromosomes. *Genetics*. 23: 315-376.

*-Morales Pedro. 1988. El daño a la información genética y los intercambios entre cromátidas hermanas. Ciencia y desarrollo. XIV. 81: 65-72.*

*-Morales R.P., Vallarino-Kelly, Rodríguez R. 1983. Effect of BrdU and low doses of gamma radiation on sister chromatid exchange, chromosome breaks, and mitotic delay in mouse bone marrow cells in vivo. Environmental Mutagenesis. 5: 589-602.*

*-Newmark H.L. y Mergens W.L. 1981. Alfa-tocopherol (vit. E) and its relationship to tumor induction and development. Zedeck J. S. and lipkins. 127-168.*

*-Newmark. y Mergens. W. J. 1981. Application of ascorbic acid and tocopherols as inhibitors of nitrosamine formation and oxidation in foods: Criterio of food acceptance. 379-390.*

*-Painter Robert. B., A. 1980. Replication Model for sister chromatid exchange. Mutation Research. 70: 337-341.*

*-Perry. P., Evans H. J. 1975. Cytological detection of mutagen carcinogen exposure by sister chromatid exchange. Nature 258: 121-124.*

*-Pike R. L, Brown M. L. Nutrition: An Intergrated approach. Segunda ed. Editorial John Wiley & Sons, INC. London 1985. 160-169 pág.*

- Randolph Lee Clark, Russell W. *El Libro de la Salud. México, sexta impresión. 1987.*
- Raymond J Shamberger, Frances F., Baughman. 1973. *Carcinogen-Induced Chromosomal breakage decrease by antioxidants. Proc. Nat. Acad. Sci. 70. No. 5: 1461-1463.*
- Salkeld R. M. 1986. *Nutrition, cancer and cardiovascular disease, Roch Green Corner. Res. Rep. B-107: 405.*
- Sh Klor G. 1982. *Oral mucosal carcinogenesis in hamster: Inhibition by vitamina E. JNCI. 68: 791-797.*
- Tice Raymond R, Bo Lambert. 1984. *A Review of the in ternational symposium on sister chromatid exchange: Twenty five years of experimental research. Environmental Mutagenesis 6: 737-752*
- Somers. E. 1981. *Agentes Físicos y qulmicos y riesgo carcinogénico. Bol of Sanif. Panam 90: 6.*
- Stetka D. G., Carrano A. V. 1977 *The interaction of Hoeschst 33258 and Brdu substituted DNA in the formation of sister chromatid exchange. Chromosoma. 03: 21-31.*
- Tanaka J. Fujiwara H. y Torisu M. 1979 *Vitamina E and immune response I. Enhancement of helper T cell activity by dietary supplementation of vitamin E in mice. Immunology 38: 727-734.*



**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

-Taylor J.H., Woods PS, Hughes W.L. 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc. Natl Acad Sci* 43:122-128

-Taylor J.H. 1985. Sister chromatid exchange in tritium-labeled chromosomes. *Genetics* 43:515-529.

-Tegerdy R. P. 1980. Effect of vitamina E on immune response, in: *Vitamin E ed. Muchlin: 429-443.*

-Vijay Raina and H. L. Gurtoo. 1985. Effects of vitamins A, C, and E on Aflatoxin B1-Induce Mutagenesis in *Salmonella typhimurium* TA-98 and TA-100. *Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis* 5: 29-40.

-Vogel W, Autenrieth M. Speit G, 1986. Detection of bromodeoxyuridine-incorporation in mammalian chromosomes by a bromodeoxyuridine-antibody. I. Demonstration of replication patterns. *Hum Genet* 264: 1-4.

-Vuilleumier J. et. al. 1983. Clinical Chemical Methods for the Routine Assessment of the vitamin status in human populations. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 53: 265-272.

-Wald N. J., Boreham J. L. 1984. Plasma retinol, B Carotene and vitamin E levels in relation to the future risk of breast cancer. *Br J. Cancer.* 49: 321-324.

*relation to the future risk of breast cancer. Br. J. Cancer. 49: 321-324.*

*-Waxman Samuel and Brackner Howard. 1982. The Enhancement of 5-fluorouracil antimetabolic activity by Leucovorin menadione and tocopherol. Eur J. Cancer Clin Oncol. 18. No. 7: 685-692.*

*-White A. D., y L. C. Hesketh 1980. A method utilizing human lymphocytes with in vitro metabolic activation for assessing chemical mutagenicity by sister-chromatid exchange analysis. Mutation Research. 69: 283-291.*

*-Wigle D. T. 1978. Cancer patterns in Canada. Can J. Public Health. 69: 120-133.*

*-William F. Morgan y Peter E. Crossen. 1980. Mitotic Spindle inhibitors and sister-chromatid exchange in human chromosomes. Mutation Research 77: 283-286.*

*-Wolff S., J. Bodycote, R. B. Painter. 1974. Sister chromatid exchanges induced in chinese hamster cells by U.V. irradiation at different stages of the cell cycle: Then necessity for cells to pass through S. Mutation Research. 25: 73-81.*

*-Wolff. S., Perry P. 1974. Differential Giemsa staining of sister chromatids and the study of sister chromatid exchanges without autorradiography. Chromosoma. 48: 341-353.*

*-Yeu-Ming Wang et. al. 1980. Effect of vitamin E ngoi inst. Adriamycin induced Toxicity. Cancer Research. 40: 1022-1027.*