

00381 28



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MODULACION DE LA ACTIVIDAD MUTAGENICA
DE NITROARENOS AMBIENTALES POR
CAROTENOIDES Y CLOROFILINA EN
Salmonella typhimurium

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS
(B I O L O G I A)
P R E S E N T A
JESUS JAVIER ESPINOSA AGUIRRE

DIRECTOR DE TESIS: DRA. PATRICIA OSTROSKY-WEGMAN

México, D.F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

I N D I C E

CONTENIDO	PAGINA
RESUMEN	1
1. INTRODUCCION	3
2. ANTECEDENTES	8
2.1 La relación dieta-cáncer	8
2.2 Mutágenos y antimutágenos en los alimentos	11
2.3 Antimutágenos que actúan en el ambiente extracelular	14
2.3.1 captación de mutágenos o de sus precursores	14
2.3.2 Inhibición de la formación endógena de mutágenos	15
2.3.3 Desactivación de mutágenos	16
2.4 Antimutágenos que actúan en el ambiente intracelular	17
2.4.1 Modulación del metabolismo y la duplicación celular	17
2.4.2 Bloqueo de moléculas reactivas	20
2.4.3 Modulación del metabolismo del ADN	21
2.5 Genotoxicidad de nitroarenos ambientales	22
3. OBJETIVOS	23
4. MATERIAL Y METODOS	25
5. RESULTADOS Y DISCUSION	29
6. CONCLUSIONES	38
7. REFERENCIAS	39
8. TABLAS	47
9. FIGURAS	49

RESUMEN

Durante los últimos años se ha incrementado de una manera continua la investigación sobre antimutagénesis y anticarcinogénesis. Consecuentemente, ha sido probada la potencialidad protectora de 500 agentes químicos pertenecientes a 25 familias diferentes de compuestos y están en proceso una cantidad considerable de ensayos preclínicos en individuos considerados de "alto riesgo". Aunado a lo anterior, se realizan campañas de educación en salud pública encaminadas a evitar ciertas costumbres o exposiciones ambientales peligrosas o para fomentar la ingesta de factores protectores especialmente a través de la dieta.

En este trabajo se estudió el potencial antimutagénico de un vegetal típico de la dieta mexicana, el chile, en contra de 1-nitropireno, 1,6-dinitropireno y 1,8-dinitropireno, así como de un extracto de partículas aéreas ambientales recolectadas en la zona centro de la ciudad de México.

A volúmenes pequeños del extracto de chile se observó un efecto potenciador de la mutagénesis inducida tanto por los mutágenos como por la mezcla ambiental, mientras que a mayores volúmenes, hubo una acción protectora.

Se exploró el papel de antimutágenos naturales como β -caroteno y clorofilina en el efecto inhibitorio evidenciado por el extracto de chile. A concentraciones equivalentes a los presentes en el extracto ambos compuestos mostraron su capacidad

para suprimir la mutagénesis, siendo la clorofilina la de mayor efectividad. Sin embargo, sólomente cuando se usaron concentraciones de un orden de magnitud mayor, fue cuando se observó una inhibición importante. La combinación de ambos antimutágenos no tuvo efectos sinérgicos o aditivos.

Los datos obtenidos con el extracto de chile muestran la presencia de factores protectores y potenciadores de la mutagénesis, por lo que el resultado de la suma de ambos debe ser evaluado en modelos animales.

1. INTRODUCCION

Prácticamente todas las actividades que se realizan en la vida diaria implican cierto riesgo para la salud derivado de la exposición a factores con propiedades genotóxicas. El agua y los alimentos así como los fármacos que se ingieren, el aire que se respira y muchas veces los lugares de trabajo, pueden estar contaminados con sustancias tóxicas naturales o sintéticas. Adicionalmente, existe relación con elementos naturales como la luz ultravioleta proveniente del sol, factores resultantes del estilo de vida como el fumar, tomar alcohol, ingestión de dietas con alto contenido de grasas, etc...

Aún y cuando fuéramos capaces de disminuir el contacto con todos los factores exógenos mencionados, es imposible evitar aquel con productos químicos altamente reactivos que resultan del metabolismo propio de las células y alteran nuestro patrimonio genético (Ames y Gold, 1991).

Las alteraciones en el material genético que se provocan por la exposición a agentes genotóxicos, pueden originar mutaciones que se definen como modificaciones en la secuencia de bases nitrogenadas en la molécula de ácido desoxirribonucléico (ADN). El ADN es la molécula encargada de preservar todas las características heredables de los organismos vivos y mantener su integridad, es sinónimo de conservar las especies.

Las mutaciones han jugado un papel preponderante en la evolución de los organismos, sin embargo, pueden tener manifestaciones patológicas, entre las que se incluyen

padecimientos congénitos y cáncer. En la actualidad se han descrito más de dos mil enfermedades hereditarias, aproximadamente el tres por ciento de todos los recién nacidos son portadores de anomalías congénitas que requieren atención médica y cerca del sesenta por ciento de los abortos que ocurren en el primer trimestre del embarazo se deben a aberraciones cromosómicas (Fabricant y col., 1978). Esto pone de manifiesto la contribución de las alteraciones genéticas a la patología humana.

No hay duda de que la enfermedad a la que se ha dado mayor importancia y cuyo origen genético ha sido establecido en los últimos años, es el cáncer. Por ser este un mal que está asociado a un gran sufrimiento de la persona que lo padece y de sus familiares, así como por el costo económico que implica a la sociedad y por el incremento en las tasas de mortalidad debido a este padecimiento (IARC, 1990).

Existen suficientes evidencias para asegurar que el cáncer resulta de un proceso que consta de varias etapas que incluyen alteraciones genéticas, proliferación celular y expansión clonal (Weinstein, 1991). Dentro de la primera se pueden citar: activación de proto-oncogenes por mutación, inactivación por mutación de algunos genes supresores de la proliferación celular, además de diversas aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas (Weinstein, 1988; Fearon y Vogelstein 1990). Teniendo en cuenta esta visión multifactorial del cáncer, se plantea la existencia de eventos limitantes en el trayecto de conversión de una célula normal a una transformada. Durante el

camino existen diversos factores causales (exógenos y endógenos) que actúan de manera acumulativa y que influyen en la incidencia de cánceres específicos.

Puesto que las alteraciones genéticas constituyen eventos esenciales en la generación de cáncer, en la dos últimas décadas se ha prestado un interés particular en la búsqueda e identificación de compuestos mutagénicos presentes en el ambiente y asociados al estilo de vida. La identificación de los factores de riesgo y su pronta remoción del medio, es una de las formas de implementar la prevención primaria del cáncer, sin embargo, esta medida ha resultado poco práctica debido, entre otras razones, a la gran cantidad de compuestos potencialmente carcinogénicos identificados, al elevado costo que significa su remoción, a que varios de estos productos se encuentran ligados a los beneficios de la vida moderna y a los hábitos personales, además de que muchos son indispensables, como ciertos fármacos.

Por otro lado, los agentes mutagénicos que se generan endógenamente provocan daño masivo al ADN, que puede convertirse en mutaciones estables durante la división celular. Es por ello que algunos autores señalan la importancia que tienen los agentes mitogénicos (inductores de la división celular) en la génesis del cáncer (Ames y Gold, 1990). Se ha calculado que la cantidad de impactos al ADN por célula por día ocasionados por oxidantes endógenos, son del orden de 10^5 en la rata y de 10^4 en el hombre.

Este daño premutagénico es reparado efectivamente mas no de manera perfecta; por ejemplo, el nivel normal de 8-hidroxidesoxiguanosina (uno de los 20 aductos oxidantes identificados) en ADN de rata, es de cerca de 90,000 por célula (Ames y Gold, 1991). Se considera que este tipo de daño contribuye en forma importante en los procesos de envejecimiento y de las enfermedades degenerativas asociadas a la edad como lo es el cáncer.

Sin embargo, y a pesar de estos cálculos pesimistas, los seres vivos cuentan con una serie de defensas naturales que impiden el desarrollo de enfermedades degenerativas. De aquí que es comprensible el hecho de que las células estén preparadas para lidiar con los efectos mutagénicos y carcinogénicos de componentes fisiológicos o de aquellos extraños al organismo, por lo menos a concentraciones que no saturen los mecanismos de defensa.

Las alteraciones genéticas en las células somáticas o en las germinales, constituyen la expresión final de una intrincada cadena de eventos como son: la penetración del agente genotóxico al organismo (en el caso de mutágenos exógenos), su distribución y transporte a órganos y tejidos, el ingreso a través de la membrana de las células, el metabolismo en las células blanco, el acceso al núcleo, el daño al ADN y finalmente la fijación de la mutación que depende de la proliferación celular. Todas estas etapas son el resultado de la acción de mecanismos opuestos como la activación metabólica y la desintoxicación, la formación de derivados electrofilicos y su

bloqueo por nucleofílicos, la generación de especies activas de oxígeno y su inactivación por antioxidantes, el daño al ADN y su posterior reparación.

Esta complejidad hace difícil el proporcionar una descripción simple del proceso, pero al mismo tiempo da oportunidad de interferir con él abordando estrategias múltiples.

2. ANTECEDENTES

2.1 La relación dieta-cáncer

Los estudios epidemiológicos han revelado la existencia de patrones diferentes de cáncer (en diversos órganos) dependiendo del lugar geográfico en que se localicen. En particular, los datos obtenidos de emigrantes, muestran que los cambios en los hábitos personales dan por resultado modificaciones características en el patrón de incidencia de cáncer en estas poblaciones, asociadas muy probablemente con alteraciones en los hábitos dietéticos (Sugimura, 1990).

Por ejemplo, los datos más completos referentes a la incidencia de cáncer de estómago, son los obtenidos en poblaciones de origen japonés que habitan en Hawaii quienes han emigrado de una área de alto riesgo a otra de bajo. En general, hay una disminución del peligro en los individuos nacidos en Japón, el cual se aproxima al que posee la población del país hospedero en generaciones subsecuentes (Kolonel y col., 1981). La comparación de estos datos con los obtenidos por cuestionarios sobre la dieta, sugieren que los hijos de japoneses ingieren menos vegetales en salmuera y pescado seco salado que sus padres. Ambos alimentos han sido asociados con la posibilidad de contraer cáncer de estómago en investigaciones de casos y testigos (Haenszel y col., 1972; Bjelke, 1974).

El caso opuesto se ha observado con respecto al riesgo de cáncer de colon y de recto, para los cuales los emigrantes se mueven de áreas con bajo peligro a áreas con alto.

Las poblaciones de chinos y japoneses que se mudan a Hawaii o a cualquier otra parte de los Estados Unidos, adquieren una elevada posibilidad de padecer cáncer de colon, la cual se aproxima rápidamente a la que poseen las poblaciones originarias del país anfitrión. Es más, las tasas de incidencias de cáncer de colon y recto en japoneses nacidos en los Estados Unidos, exceden a las encontradas en la raza blanca originaria de ese país (Shimizu y col., 1987).

Mediante el método epidemiológico también se ha tratado de identificar los factores dietéticos que puedan estar ligados al desarrollo de cáncer. De esta manera, los estudios de incidencia y mortalidad de cánceres del intestino grueso (Martínez y col., 1979; Miller y col., 1983; Bristol y col., 1985; Graham y col., 1988); de mama (Miller y col., 1978; Sarin y col., 1985; Toniolo y col., 1989) y de próstata (Graham y col., 1983; Kolonel y col., 1983), en diferentes poblaciones del mundo, muestran una fuerte asociación con el consumo promedio per-cápita de lípidos, particularmente del tipo saturado.

Varios estudios de correlación también proporcionan evidencias indirectas de que la exposición a niveles elevados de nitratos o nitritos en los alimentos y el agua de beber, predisponen a padecer cáncer de estómago y de esófago (Tannenbaum y col., 1979; Armijo y col., 1981). Estos compuestos pueden reaccionar (en condiciones de pH fisiológico del estómago) con otras sustancias de la dieta como amidas y aminas, para producir compuestos N-Nitroso que son carcinogénicos en todas las especies de animales empleados en el bioensayo (Bartsch, 1989).

Un estudio de casos y testigos en Hong-Kong mostró una asociación positiva entre el consumo de pescado salado durante la infancia y el desarrollo de tumores en la cavidad nasal (Yu y col., 1986). El mismo autor encontró que las personas con gusto por las comidas saladas tienen un riesgo alto de desarrollar cáncer de estómago (Yu y col., 1988).

Los datos epidemiológicos sobre la asociación entre tomar café y el desarrollo de cáncer, son menos concluyentes. Algunas investigaciones sugieren una relación con cáncer de vejiga (Cole 1971; Simon y col., 1975; Howe y col., 1980) o de páncreas (MacMahon y col., 1981); sin embargo, en otros trabajos no se encuentra conexión (Morrison y col., 1982; Hartge y col., 1983; Jensen y col., 1986). Lo que parece más claro es la correlación entre cáncer de esófago y el contacto con bebidas calientes en general.

Los nexos entre los hábitos alimenticios y la probabilidad de desarrollar cáncer descritos anteriormente, ponen de manifiesto la influencia de la dieta en el progreso de esta enfermedad. Independientemente de la presencia de otros factores no contemplados en la literatura mencionada, en la dieta existen varios agentes químicos que son fundamentales en la etiología del cáncer.

Afortunadamente, los alimentos contienen también componentes que interfieren con el desarrollo de neoplasias. Como ejemplos se puede mencionar a la vitamina A, los carotenoides, las vitaminas C, E y B₂, los elementos traza como el selenio y el zinc, varios inhibidores encontrados en plantas y la fibra

vegetal. Muchos de estos micronutrientes protectores son agentes antioxidantes, y se ha postulado que el mecanismo de inhibición de la carcinogénesis podría ser el bloqueo de la formación endógena de carcinógenos o la captura de radicales libres del oxígeno o especies electrofílicas exógenas (Peto y col., 1981; Wattenberg, 1983).

2.2 Mutágenos y antimutágenos en los alimentos

Los estudios epidemiológicos han fijado las bases para la búsqueda e identificación de factores cancerígenos en los alimentos. Puesto que los ensayos de carcinogénesis en roedores son costosos y los resultados se obtienen a largo plazo, la estrategia ha sido el uso de pruebas de "corto duración" que si bien no miden directamente la carcinogenicidad de los compuestos, detectan un evento importante en su desarrollo, la mutagénesis.

Mediante ensayos que utilizan principalmente microorganismos, se han identificado en los alimentos una gran variedad de agentes mutagénicos, algunos de los cuales han dado resultados positivos en pruebas de carcinogenicidad. Sin embargo, tal y como lo sugería la información emanada de la epidemiología, se han encontrado moléculas capaces de interferir conjuntamente con los mecanismos tanto del establecimiento de las lesiones premutagénicas, como de su expresión.

Los alimentos contienen varias sustancias con propiedades mutagénicas y carcinogénicas de origen natural, como son las micotoxinas y los pesticidas, éstos últimos producidos por las plantas para protegerse de insectos y otros depredadores. Se ha

calculado que el consumo humano de pesticidas naturales carcinogénicos es de 1.5 g/día (Ames, 1987).

Por otro lado, cuando nuestros ancestros comenzaron a usar el fuego para alumbrarse y cocinar, se expusieron por primera vez a mutágenos generados por la pirólisis. Estos productos que se forman bajo las condiciones normales de preparación de los alimentos, incluyen hidrocarburos aromáticos, nitroarenos y aminas heterocíclicas (Sugimura, 1990), algunos de los cuales son carcinogénicos en animales de experimentación (IARC, 1986).

Tomando en cuenta la cantidad de mutágenos presentes en los alimentos, ya sea de origen natural o generados durante su preparación, sería imposible que los humanos tarde o temprano no sufrieran de cáncer. Sin embargo, las tasas de incidencia no son tan altas como podría esperarse.

Una de las razones para explicar este fenómeno, se refiere a los mecanismos de defensa de tipo general que los animales han desarrollado durante su evolución. Estos incluyen: a) El desprendimiento continuo de células expuestas a toxinas en las capas superficiales de los epitelios de boca, esófago, estómago, intestino, colon, piel y pulmones, b) la inducción de una amplia variedad de mecanismos de desintoxicación endógena, tales como las defensas antioxidantes o la conjugación (Fase II del metabolismo) de los metabolitos (Talalay, 1989). Las células expuestas a dosis bajas de oxidantes, como el peróxido de hidrógeno o la radiación, inducen defensas antioxidantes y son capaces de resistir dosis más elevadas (Wolf, 1988), c) reparación por escisión:

este sistema es muy efectivo en corregir el daño provocado por aductos que resultan de la interacción del ADN con moléculas naturales o sintéticas, d) la eliminación activa de moléculas hidrofóbicas planas de las células de hígado e intestino. Este sistema de resistencia múltiple a las drogas (Kane y col., 1990) puede representar una defensa natural en contra de compuestos intercalantes.

La segunda razón para explicar la baja incidencia de cáncer con relación a la elevada exposición humana a carcinógenos naturales y sintéticos, es la presencia en los alimentos de sustancias que disminuyen o anulan los efectos genotóxicos de los mutágenos (Wattenberg, 1983). A estos productos se les conoce como antimutágenos y pertenecen a una gran variedad de familias químicas.

Dentro de los múltiples niveles en que pueden actuar los antimutágenos, se mencionan los siguientes: a) prevención de la formación de mutágenos, b) intercepción de mutágenos por tejidos y organización celular, c) intercepción de mutágenos por enzimas o por componentes presentes en la célula o sus alrededores, en varios casos estos "interceptores" son metabolitos de bajo peso molecular, d) neutralización de lesiones premutagénicas o mutagénicas por compuestos químicos o por varios mecanismos de reparación del ADN y e) utilización de mecanismos que inducen la reparación exenta de error en el ADN, que bloquean la propensa a error, o que incrementan la inactivación metabólica de mutágenos.

Basados en el mecanismo de inhibición, De Flora y Ramel, (1988) propusieron una clasificación de antimutágenos y anticarcinógenos muy interesante, separando los que actúan extracelularmente de aquellos que lo hacen intracelularmente (Tabla 1).

2.3 Antimutágenos que actúan en el ambiente extracelular

2.3.1 Captación de mutágenos o de sus precursores. Algunos ácidos grasos de cadena corta, como el caproato, por lo menos en bacterias, impide la internalización de los metabolitos de N-nitrosodimetilamina al microorganismo (Negishi y Hayatsu, 1984). Otros ejemplos son la putrescina y los aminoácidos aminados que inhiben la penetración de paraquat y azaserina respectivamente (Brooke-Taylor y col., 1983; Ames, 1964). Es interesante también la forma en que se atrapan los mutágenos derivados de la pirólisis de alimentos, por micelas de ácidos grasos (Hayatsu y col., 1988).

Un fenómeno bien estudiado es la remoción de mutágenos y carcinógenos del intestino grueso debido a las fibras de la dieta. Varios estudios in vitro han mostrado que fibras purificadas preparadas de diferentes vegetales, son capaces de adsorber irreversiblemente los agentes mutagénicos de proteínas y aminoácidos provenientes de la pirólisis del triptofano y del ácido glutámico (Barnes y col., 1983; Kada y col., 1984). La fibra del maíz comparada con la del trigo y el polvo de celulosa, inhibe mejor la mutagenicidad de los dinitropirenos (importantes contaminantes ambientales) y la de moléculas derivadas de aminoácidos

sometidos a temperaturas altas (Takeuchi y col., 1988). Los ensayos en animales también indican efectos protectores de las fibras, aunque existen resultados contradictorios dependiendo del carcinógeno y de la fibra utilizados (Reddy, 1987).

2.3.2 Inhibición de la formación endógena de mutágenos. La reacción que ocurre en el ambiente gástrico entre el nitrito y las aminas nitrosables, es la interacción más común que origina la inducción endógena de mutágenos. Los productos resultantes constituyen parte de la categoría de compuestos N-nitroso, una familia de mutágenos y carcinógenos bien caracterizada. Aproximadamente el 90% de estas sustancias han resultado carcinogénicas en 40 especies diferentes de animales incluyendo a los primates (Bartsch y col., 1988), lo que implica su elevado potencial carcinogénico en el hombre. Dentro de los inhibidores de la nitrosación más conocidos se pueden citar a las vitaminas C y E, a fenoles sintéticos y naturales como los ácidos caféico, ferúlico y gálico.

Otro ejemplo de la formación endógena de mutágenos, es el de la bioactivación de moléculas por la multitud de procariontes que colonizan el organismo humano, principalmente los que se encuentran en el intestino. Aunque estos microorganismos juegan un papel fisiológico preponderante, por ejemplo en la síntesis de ciertas vitaminas, se sabe que también bioactivan mutágenos como la cicasina que es atacada por glicosidasas de la flora bacteriana dando lugar al metabolito activo, la aglicona metilazoximetanol (Matsumoto y Higa, 1966). La microflora intestinal puede

metabolizar una amplia gama de agentes químicos, utilizando caminos metabólicos poco representativos de células de mamíferos.

2.3.3. Desactivación de mutágenos. Los mutágenos de fuentes exógenas o aquellos formados endógenamente, pueden ser neutralizados en el ambiente extracelular antes de alcanzar la célula blanco, por una variedad de reacciones bioquímicas. El pH normal del tracto digestivo influye en la actividad de mutágenos, ya sea protegiéndolos de la inactivación o bien reduciendo su potencia (De Flora y Ramel, 1988). Se han detectado en el fluido epitelial del tracto respiratorio bajo, componentes termoestables que reducen el cromo hexavalente disminuyendo así su mutagenicidad (De Flora y col., 1987).

El glutatión proveniente de enterobacterias como Salmonella typhimurium y Escherichia coli es una defensa contra electrófilos presentes en el tracto intestinal. Este tripéptido es exportado al microambiente extracelular y protege contra agentes tóxicos como la nitrosoguanidina (Owens y Hartman, 1986).

El plasma sanguíneo y otros espacios extracelulares contienen concentraciones elevadas de componentes fisiológicos poseedores de una marcada capacidad antioxidante, como el ácido úrico (Ames y Gold, 1991), y la bilirrubina (Stocker y col., 1987). Los niveles de estos parámetros hematológicos pueden ser regulados dietética o farmacológicamente. También en la saliva se ha detectado actividad antioxidante y la inactivación de mutágenos ha sido atribuida principalmente a la presencia de

peroxidasas.

2.4 Antimutágenos que actúan en el ambiente intracelular

Muchos de los eventos críticos para la expresión de la mutagénesis y la iniciación del cáncer, ocurren en el espacio intracelular. Aunque el conocimiento de este proceso se encuentra fragmentado y es aún incompleto, la información que comprende desde la penetración a la célula de un mutágeno o carcinógeno hasta la fijación del daño genético, es indispensable para el entendimiento de los mecanismos de protección involucrados.

2.4.1 Modulación del metabolismo y la duplicación celular. Las células en replicación son más vulnerables a la acción de los iniciadores que aquéllas que se encuentran en reposo. Esto se debe a que los mecanismos de reparación exentos de error de las lesiones sufridas por el ADN, deben actuar antes de que la célula se divida y las células en etapa de proliferación no poseen el tiempo suficiente para ello. Las células tratadas en G₂, que cuentan con todo un ciclo celular por delante para realizar la reparación, con frecuencia presentan una curva dosis-efecto con umbral esto es, a dosis bajas los resultados son negativos. Por otro lado, si el tratamiento es inmediatamente antes del comienzo de la fase S, la respuesta dependiente de la dosis es lineal (Jenssen, 1982).

La inhibición de los mecanismos de bioactivación de mutágenos a sus metabolitos electrofilicos activos, es otra forma de inhibir el proceso mutacional. De igual manera, si se estimulan los mecanismos de neutralización se puede obtener el mismo resultado. Cuando la activación metabólica ocurre en tejidos cuyas células no son el blanco final del carcinógeno químico, el destino del metabolito antes de alcanzar las células importantes es afectado por procesos de protección como aquellos descritos en la sección de "Desactivación de mutágenos", que operan en ambientes extracelulares. En algunos casos son necesarias las comunicaciones intercelulares para la transferencia del compuesto reactivo entre células vecinas.

Un hecho interesante es la acumulación de mutágenos directos en células de larga vida con funciones acarreadoras o de limpieza y su posterior desintoxicación por mecanismos inducibles que actúan dentro de la misma célula. Un ejemplo es la penetración selectiva de cromo hexavalente en eritrocitos, seguido de su reducción por el glutatión a la forma trivalente estable (Kitagawa y col., 1982), cuya concentración en los glóbulos rojos puede ser estimulada por la administración de N-acetilcisteína (De Flora y col., 1985). También se ha mostrado que los macrófagos alveolares tienen capacidad de activar el benzo[a]pireno a su metabolito mutagénico (Romert y Jenss, 1983), pero también poseen sistemas enzimáticos de desintoxicación como la glutatión S-transferasa y la diaforasa, que son promovidas por inductores enzimáticos como el Aroclor 1254 y la N-acetil-

cisteína (De Flora y col., 1992).

El metabolismo oxidante del retículo endoplásmico está constituido por una superfamilia de genes cuyos productos se conocen en conjunto como citocromo P450, que es inactivado por una gran variedad de sustratos debido a su poca especificidad. Dichos inhibidores pueden interferir a través de una variedad de mecanismos que incluyen: a) reacción con el hierro del grupo hemo dando por resultado la disminución en la fijación del oxígeno, b) reacción competitiva por el sitio de unión con el sustrato, c) transformación de P-450 a P-420, d) interferencia con la reducción del citocromo P450, e) captación de electrones provenientes del NADPH y f) producción de variantes inactivas como el citocromo P-448.

El citosol celular realiza otras actividades enzimáticas implicadas en el metabolismo de mutágenos y carcinógenos. Un ejemplo lo constituye el glutatión, el cual posee mecanismos de defensa enzimáticos y químicos, elevando el umbral de susceptibilidad del organismo a varios xenobióticos mutagénicos y carcinogénicos. El fenómeno conocido como "umbral de glutatión" puede incrementarse con la administración de precursores apropiados y estimulando las enzimas involucradas en la síntesis y el metabolismo de este tripéptido.

Otro mecanismo de desintoxicación que se encuentra en el citosol, es el proporcionado por la DT diaforasa. El papel principal de esta actividad enzimática es catalizar la transferencia de 2 electrones ya sea del NADH ó del NADPH a un sustrato adecua-

do como los colorantes azo y las quinonas. En el último caso, la transferencia conduce a la formación de hidroxiquinonas inactivas e impide la reducción ocasionada por el citocromo P-450 a través de la transferencia de un solo electrón y la subsecuente formación de semiquinonas tóxicas (Lind y col., 1982).

Finalmente, no se puede pasar por alto la presencia de otras enzimas citosólicas que protegen a la célula del daño oxidativo, como la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa con selenio como grupo prostético. (Hochstein y Atallah, 1988).

2.4.2 Bloqueo de moléculas reactivas. El fenómeno mutacional puede ser evitado por inhibidores que interactúan con sustancias químicas reactivas provenientes de fuentes exógenas o generadas dentro de la célula. Estos bloqueadores atrapan metabolitos electrofílicos cargados positivamente o radicales provenientes del oxígeno, compartiendo propiedades de nucleófilos y antioxidantes.

La captura de electrófilos puede ser lograda ya sea por reacción directa con nucleófilos o por conjugaciones enzimáticas. Este último mecanismo es conocido como reacciones de Fase II y, con algunas excepciones, conducen a la formación de productos inactivos como los glucurónidos, los sulfatos y los conjugados con glutatión. Las enzimas involucradas son inducibles y han sido propuestas como marcadores para la evaluación del potencial anticarcinogénico de ciertos inhibidores (Wattenberg, 1983).

También existe la posibilidad de que algunos agentes resguarden al ADN del ataque de especies electrofílicas o radicales libres, uniéndose a los sitios nucleofílicos de éste. Un ejemplo lo constituye el ácido elálgico, un componente natural de vegetales como el café, las nueces y las uvas (Wood y col., 1982).

La vitamina A puede actuar como agente bloqueador ya sea formando epóxidos que compitan con mutágenos por reaccionar con el ADN o aumentando la producción de prostaglandinas que impidan la unión de carcinógenos con el ADN (Budroe y col., 1987).

2.4.3 Modulación del metabolismo del ADN. Se puede obstruir la expresión de oncogenes, tratando células de mamífero en cultivo con algunos anticarcinógenos. Por ejemplo, se ha observado una disminución de la expresión de c-myc en células en proliferación tratadas con antipaina, que es un inhibidor de proteasas (Chang y col., 1985), así como en condiciones de interrupción de la proliferación de células HL60 (Westin y col., 1982) o tratadas con un metabolito de vitamina D₃ (Reitsma y col., 1983).

Finalmente, se puede lograr una baja en la frecuencia de mutación incrementando la fidelidad de la duplicación del ADN, favoreciendo la reparación del ADN dañado o bloqueando los sistemas de reparación propensos a error. Los siguientes antimutágenos actúan por alguno de los mecanismos mencionados: el cloruro de cobalto induce la reparación por recombinación; el arsenito de sodio obstaculiza la expresión del gene umuC y eleva la reparación exenta de error en bacterias; el cinamaldehído, la cumarina y la umbeliferona, promueven la reparación del ADN (De

Flora y Ramel, 1988).

2.5 Genotoxicidad de nitroarenos ambientales.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos se forman en sistemas de combustión a elevadas temperaturas y por lo tanto son emitidos esencialmente de todas las fuentes de combustión. Dentro de éstas se incluyen las emisiones de automóviles, procesos industriales, sistemas de calefacción doméstica, incineradores de despedicidos, humo de tabaco, quema de bosques para la agricultura y varias fuentes naturales como incendios forestales y erupciones volcánicas (Nikolaou y col., 1984). Debido a la ubicuidad de estas fuentes de combustión, los hidrocarburos aromáticos están distribuidos en toda la tropósfera en sus fases particulada y gaseosa . Muchos de ellos son carcinogénicos en animales de laboratorio (National Academy of Sciences, 1983) y pro-mutágenos en el sistema de Ames (MacCann y col., 1975).

Sin embargo, se sabe que los extractos de material orgánico respirable poseen una elevada mutagenicidad aún en ausencia de activación metabólica (Tokita y col., 1977) y que este efecto no está dado por la fracción de hidrocarburos aromáticos. Aunque los mutágenos directos presentes en esta fracción no han sido identificados plenamente, se han encontrado nitroarenos en partículas orgánicas ambientales (Arey y col., 1986), diesel (Robbat y col., 1986), gasolina (Nishioka y col., 1982), cenizas resultantes de la combustión de la madera (Gibson 1983) y otros

productos de combustión. El interés en estos nitroarenos ha aumentado por la observación de que el 1-nitropireno produce tumores de mama en rata (Hirose y col., 1984) y los dinitropirenos inducen sarcomas en roedores (Tokiwa y Onishi, 1986).

Se ha propuesto que la mayor parte de los nitroarenos en el ambiente se forman a partir de hidrocarburos precursores por reacciones de nitración en atmósferas con altos niveles de oxidantes fotoquímicos y dióxido de nitrógeno (Tokiwa y Onishi, 1986) lo cual es común en ciudades con tráfico intenso de vehículos automotores principalmente en épocas invernales. Utilizando una combinación de cromatografía líquida de alta resolución y el sistema de prueba de Salmonella typhimurium, se ha llegado a la conclusión que la mutagenicidad de partículas de diesel es debida a 1-nitropireno, 1,6-, 1,3- y 1,8-dinitropirenos, 1-nitro-3-acetoxipireno, 1-nitro-3-hidroxipireno y nitrofluorantenos (Manabe y col., 1985).

3. OBJETIVOS

Generales

- a) Probar el potencial de un extracto libre de células de chile poblano (*Capsicum annum* L. *grossum* Sendt), para disminuir o anular el efecto genotóxico inducido por mutágenos importantes por su distribución y persistencia en el medio ambiente.
- b) Relacionar el potencial antimutagénico del extracto con su contenido de clorofila y carotenoides.

Particulares

- a) Establecer las curvas dosis-efecto de los mutágenos 1-nitropireno, 1,6-dinitropireno y 1,8-dinitropireno usando el sistema para la detección de mutágenos de Salmonella typhimurium.
- b) Probar la capacidad antimutagénica del extracto, usando varias concentraciones de éste en combinación con una concentración de cada uno de los mutágenos.
- c) Cuantificar las concentraciones de clorofila y carotenoides en el extracto.
- d) Probar la capacidad de clorofilina y β -caroteno, a las concentraciones presentes en el extracto, para inhibir la mutagenicidad de 1-nitropireno, 1,6-dinitropireno y 1,8-dinitropireno.
- e) Probar la capacidad del extracto de Chile para inhibir la mutagenicidad de una mezcla compleja ambiental (extracto orgánico de partículas aéreas suspendidas en la atmósfera de la Cd. de México).

4. MATERIAL Y METODOS

Soluciones de mutágenos. Se prepararon soluciones de los mutágenos 1-nitropireno, 1,6-dinitropireno y 1,8-dinitropireno (Sigma Chemicals, St. Louis Missouri, EUA) en dimetilsulfóxido (Merck de México). Las concentraciones probadas de 1-nitropireno fueron de 0.01, 0.03, 0.06 y 0.10 microgramos /caja y las de 1,6-dinitropireno y 1,8-dinitropireno fueron de 0.01, 0.03, 0.06 y 0.10 nanogramos/caja. La 4-nitroquinoleína N-óxido fue usada como testigo positivo disuelta en dimetilsulfóxido.

Preparación del extracto de chile. Con base en su elevado contenido de β -caroteno se escogió al chile "poblano" (Capsicum annuum L. grossum Sendt) para la elaboración de este estudio. Los chiles se adquirieron en un supermercado local, se lavaron con agua corriente y se enjuagaron con agua destilada. Después de remover las semillas, se cortaron en pedazos pequeños y se colectó el jugo mediante un extractor casero de jugos . De esta manera se obtuvieron 250 ml a partir de 520 g del tejido vegetal los cuales fueron centrifugados en frío a 9000xg por 20 minutos. El sobrenadante se conservó a -70°C y antes de utilizarlo en los ensayos de antimutagénesis, se esterilizó por filtración con ayuda de una membrana millipore de 0.45 μm .

Quantificación de carotenoides y clorofilas totales. Se realizó según la ecuación propuesta por Lichtenthaler (1987) usando como disolvente acetona al 80% para obtener los pigmentos de una alícuota del extracto de chile:

$$\begin{aligned}
 C_a &= 12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8} \\
 C_b &= 21.50A_{646.8} - 5.10A_{663.2} \\
 C_{a+b} &= 7.15A_{663.2} + 18.71A_{646.8} \\
 C_{x+c} &= 1000A_{470} - 1.82C_a - 85.02C_b
 \end{aligned}$$

198

Donde:

C_a = Concentración de Clorofila a
 C_b = Concentración de Clorofila b
 C_{a+b} = Concentración de Clorofilas Totales
 C_{x+c} = Concentración de Carotenoides Totales

Obtención del extracto de partículas aéreas. La recolección de partículas aéreas se realizó por medio de un muestreador de tipo Hi-Vol equipado con un filtro de acetato de celulosa de 8 x 10 pulgadas. El muestreo se hizo durante 24 horas continuas a un flujo aproximado de 1.03 pies³/min en la estación de muestreo La Merced perteneciente a la red automática de la Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL).

El método de extracción fué similar al propuesto por Krishna y col.(1985). Una muestra del filtro correspondiente a 100 cm² se cortó en pedazos pequeños que se colocaron en 150 ml de cloruro de metileno dejándose en reposo por 30 minutos. El extracto se filtró a través de papel Whatman No. 3 y el residuo se lavó con otros 25 ml de cloruro de metileno. El filtrado se evaporó a sequedad con ayuda de un rotavapor (40°C) y el residuo fue recogido con 3 ml de dimetilsulfóxido el cual se mantuvo a -70°C hasta su uso en las pruebas de mutagénesis.

Ensayo de mutagénesis. Se utilizó la cepa YG1024 de Salmonella typhimurium que es un microorganismo con actividad enzimática elevada de nitrorreductasa "clásica" y de O-acetiltransferasa (Watanabe y col., 1989; 1990). Esta propiedad confiere a la cepa una sensibilidad elevada a compuestos nitroaromáticos y sus derivados amino e hidroxilamino por lo cual fue escogida para este estudio. En los experimentos con los dinitropirenos se usó además la cepa YG1020 que posee actividad enzimática normal.

A un tubo de ensayo con dos ml de agar de superficie licuado y mantenido a 45°C se le adicionó en el siguiente orden: 0.1 ml del cultivo bacteriano crecido durante 16 horas a 37°C y 0.1 ml del mutágeno disuelto en dimetilsulfóxido. El contenido se agitó y se distribuyó en la superficie de cajas de Petri con medio mínimo de Vogel-Bonner (Maron y Ames, 1983). Después de que solidificó el agar a temperatura ambiente, las cajas se incubaron invertidas a 37°C durante 48 horas y posteriormente se contó el número de colonias mutantes provocadas por el tratamiento de los diferentes mutágenos (3 distintos nitroarenos y el extracto de partículas aéreas) utilizados. Como testigo positivo se empleó la 4-nitroquinoleína N-óxido.

Ensayo de antimutagénesis. Para explorar el potencial antimutagénico del extracto de chile, se agregaron diferentes volúmenes de éste a dos mililitros de agar de superficie junto con 50 µl (6.6m³) de un extracto de partículas aéreas y 0.1 ml de un cultivo bacteriano de 16 h de incubación de la cepa YG1024. Luego de homogeneizada la mezcla, se vertió en medio mínimo de Vogel-

Bonner dejando solidificar a temperatura ambiente. Las cajas así preparadas se incubaron por 48 horas a 37°C y se contaron las colonias mutantes que resultaron. En experimentos complementarios se substituyó el extracto de partículas aéreas por uno de los siguientes nitroarenos: 1-nitropireno (50 ng), 1,6-dinitropireno (0.2 ng) ó 1,8-dinitropireno (0.06 ng).

De la misma manera se substituyó el extracto de chile por β -caroteno, clorofilina (Sigma Chemical, St. Louis Missouri, EUA) o la mezcla de ambos, a concentraciones equivalentes al contenido de carotenoides o clorofilas totales presentes en el extracto de chile, probándose así la capacidad de estos antimutágenos naturales para interferir con la mutagenicidad de los tres nitroarenos.

Análisis de resultados. Las potencias mutagénica y antimutagénica se calcularon ajustando las curvas dosis-efecto por el método de mínimos cuadrados y calculando la pendiente de las rectas resultantes (Houk y col. 1992). La pendiente expresa la cantidad de revertantes inducidas o inhibidas por concentración ya sea de mutágenos o antimutágenos usados.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

Las curvas de dosis-efecto obtenidas con el 1-nitropireno, el 1,6-dinitropireno y el 1,8-dinitropireno en las cepas YG1020 y YG1024 se muestran en las figuras 1, 2 y 3. Es clara la mayor sensibilidad de la cepa YG1024 la cual produce una mayor cantidad de la enzima O-acetiltransferasa (Watanabe y col., 1990), que se encuentra involucrada en el metabolismo de los nitroarenos utilizados. A partir de estos resultados se escogió a la cepa mencionada para los experimentos siguientes.

Se probó la actividad mutagénica del extracto de chile en ausencia de activación metabólica. Los datos se evidencian en la Tabla II y en la Fig. 4. Se puede observar un comportamiento de dosis-respuesta positiva con una potencia mutagénica de 0.08 revertantes/ul. Esto resultados contrasta con lo obtenido por Rockwell y Raw (1979), Buchmann y col. (1982) y Nagabhushan y Bhide (1985), los cuales describen una respuesta negativa con extractos de diversas variedades de chile en ausencia de activación metabólica en el ensayo de Ames. La diferencia puede consistir en que en este estudio se utilizó la cepa YG1024 con características enzimáticas que afectan el metabolismo de mutágenos contenidos en el extracto de chile. Por otro lado, Nagabhushan y Bhide (1985) reportaron un efecto positivo en la cepa TA98 de S. typhimurium tratada con un extracto de chile en presencia de activación metabólica proveniente de hígado de rata preinducida con Aroclor 1254. Dicha respuesta está relacionada con el contenido de capsaicina en las muestras. Para descartar la

posibilidad de una respuesta mutagénica de la capsaicina, ésta fue probada en presencia y ausencia de activación metabólica usando la cepa YG1024. Los resultados muestran la mutagenicidad de la capsaicina solamente en conjunción con la mezcla S9 (Fig. 5).

Independientemente de los datos mencionados y tomando en cuenta la baja potencia mutagénica del extracto de chile poblano, se decidió investigar el potencial antimutagénico del mismo.

Ya que tanto los agentes mutagénicos como los antimutagénicos no se encuentran solos en la naturaleza sino que forman parte de mezclas ambientales complejas, se utilizó como mutágeno la combinación de compuestos adheridos a partículas suspendidas en atmósferas urbanas. Se obtuvo un extracto orgánico de un filtro expuesto durante 24 horas a partículas suspendidas en el aire de la ciudad de México y se probó su mutagenicidad en las cepas YG1020 y YG1024 de S. typhimurium. En este experimento también fue más sensible la cepa que cuenta con mayor concentración de la enzima O-acetiltransferasa ya que con anterioridad se ha mencionado la existencia de nitroarenos en la atmósfera de ciudades con una contaminación ambiental elevada. Los datos se pueden apreciar en la Fig. 6 y la mayor sensibilidad de la cepa YG1024 es una evidencia que sugiere la presencia de nitroarenos en el extracto.

Con el objeto de conocer el efecto del chile sobre mutágenos ambientales, se agregaron varios volúmenes del extracto a

concentraciones fijas de tres de los nitroarenos más comunes: 1-nitropireno, 1,6-dinitropireno y 1,8-dinitropireno. Los resultados se encuentra en la Tabla II y Fig. 7, donde se puede observar que existe un efecto potenciador de la mutagenicidad ejercida por los nitroarenos, la cual en presencia del vegetal se incrementa por lo menos al doble con 1,8-dinitropireno y aún más con 1-nitropireno y 1,6-dinitropireno. Al mayor volumen probado del extracto de chile, que fue de 1000 μ l/caja, existe una disminución en la cantidad de revertantes que no llegó a los niveles provocados por los mutágenos en forma aislada. Es importante señalar que este descenso no estuvo acompañado por un cambio en el crecimiento de fondo en las cajas, lo que sugiere una acción antimutagénica.

Los extractos de plantas que contienen enzimas citoplásmicas y microsómicas, se han utilizado anteriormente para evaluar su potencial activador o desintoxicante. Shane y Looney. (1989) notaron que la actividad mutagénica de una mezcla de pireno nitrado se aumentó por la adición de la fracción S9 de chícharo. Un incremento similar de la mutagénesis de un areno nitrado, fué descrito por Gentile y col. (1985), quienes mostraron que la fracción S9 de chícharo y tabaco es capaz de activar a la 4-amino-o-fenilendiamina a un mutágeno de mayor potencia. Estos autores proponen la existencia de peroxidases en las preparaciones usadas, las cuales provocan la activación o potenciación de mutágenos y pro-mutágenos.

El siguiente paso fue tomar una concentración mutagénica del extracto de partículas aéreas y someterla a la presencia de varias cantidades del extracto de chile, para determinar la actividad moduladora de éste último. Cuando se agregaron volúmenes de 100 a 750 μl , se vió un efecto aditivo entre la mutagenicidad de ambas mezclas lo cual puede ser notado en la Tabla II y la Fig. 8. Sin embargo y al igual que lo detectado con los nitroarenos puros, con 1000 μl de extracto del vegetal se observó la disminución en la mutagenicidad de las partículas. No se pudo explorar lo que sucede cuando se prueban mayores volúmenes del vegetal por limitaciones de la técnica utilizada, ya que su aumento ocasiona que el agar de superficie no solidifique sobre las cajas de Petri con medio mínimo.

Los efectos del extracto de chile sobre la mutagenicidad de nitroarenos puros o de mezclas ambientales que los contienen son similares, aunque la acción potenciadora sobre el extracto de partículas aéreas fue limitado. Un aspecto interesante fue el hecho de que a 1000 μl del vegetal se produce un decremento en la cantidad de revertantes inducidas por los mutágenos aislados o la mezcla ambiental.

Dos grupos de antimutágenos naturales presentes en el chile son las clorofilas y los carotenoides (Comisión Nacional de Alimentación, 1992), por lo que se hicieron determinaciones de ellos en el extracto con el objeto de averiguar su actividad sobre la mutagenicidad de los nitroarenos. Las concentraciones fueron de 7.0 y 8.9 nMoles/ml de carotenoides y clorofilas

totales respectivamente. Con estos datos se procedió a evaluar la actividad del β -caroteno y de la clorofilina, ésta última como sustituto de clorofila, sobre la genotoxicidad de los 3 diferentes nitroarenos.

Para el β -caroteno, se utilizaron concentraciones equivalentes a las presentes en los volúmenes de extracto de chile usado en los experimentos anteriores de antimutagénesis, esto es 250, 500, 750 y 1000 μ l/caja que corresponden a 1.5, 3.5, 5.0 y 7.0 nMoles de β -caroteno/caja. El efecto antimutagénico en contra del 1,6-dinitropireno es el más evidente (Tabla II y Fig. 9) obteniéndose una curva dosis-efecto con una pendiente negativa de 53. También puede observarse una acción más tenue hacia el 1-nitropireno (pendiente = -14.3) y una casi nula para el 1,8-dinitropireno (pendiente = -2.1). Terwel y vander Hoeven (1985), reportan que el β -caroteno es un inhibidor débil de la mutagenicidad provocada por el benzo[a]pireno y un condensado de humo de tabaco, sin embargo las concentraciones del antimutágeno utilizadas fueron mayores, del orden de 10 a 500 μ Moles, obteniéndose una leve respuesta a 250 y 500 μ Moles/caja. Tomando en cuenta lo anterior y con el objeto de averiguar si a concentraciones más altas se detectaba antimutagénesis en contra de los nitroarenos, se probaron concentraciones de 0.5, 1.0, 1.5 y 3.0 μ Moles/caja.

Los resultados se muestran en la Fig. 10, en donde se aprecia una clara actividad antimutagénica principalmente en contra del 1-nitropireno (pendiente = -156.6) y del 1,6-dinitro-

pireno (pendiente = -148.5). El efecto más débil se siguió viendo para el 1,8-dinitropireno (pendiente = -119.3).

Con respecto a la clorofilina, a las cantidades contenidas en el homogenizado de chile de 9 nMoles/ml, esta molécula presentó una clara actividad antimutagénica hacia los 3 nitroarenos probados (Tabla II y Fig. 11), con pendiente de -39.3, -29.6 y -21.0 para las curvas resultantes con 1-nitropireno, 1,6-dinitropireno y 1,8-dinitropireno respectivamente. Al igual que para el β -caroteno, la clorofilina interfirió en menor medida con la mutagenicidad del 1,8-dinitropireno.

Cuando las concentraciones de clorofilina se aumentaron a 0.5, 1.0, 1.5 y 3.0 μ Moles/caja, se obtuvo un resultado notorio, lográndose, desde la dosis mas baja, disminuir en un 100% la mutagenicidad provocada por los nitroarenos (Fig. 12). Las propiedades antimutagénicas de la clorofila y de sus derivados solubles en agua, las clorofilinas, están ampliamente documentadas en la literatura. La clorofila fue el principal factor antimutagénico detectado en extractos acuosos de hojas de germinado de trigo (Lai y col. 1980), e inhibe casi en su totalidad la acción genotóxica del benzo[a]pireno y de un condensado de humo de tabaco (Terwel y van der Hoeven, 1985) además de otras mezclas complejas mutagénicas incluyendo extractos de : carne frita de res y de puerco, jugo de uva, vino tinto, humo de cigarrillo, partículas suspendidas en la atmósfera, emisiones de motores diesel, polvo de carbon y tabaco para mascar (Ong y col. 1986).

Puesto que en forma natural los dos antimutágenos probados se encuentran combinados, fue interesante determinar su posible capacidad potenciadora o aditiva sobre los nitroarenos, por lo que se realizaron combinaciones de ellos a concentraciones presentes en el extracto de chile. Las curvas dosis-efecto resultantes fueron parecidas a las obtenidas con la clorofilina por separado, quizá la excepción fue el 1,6-dinitropireno (Fig. 13). El valor de las pendientes resultantes con la combinación de compuestos fue de -32.4 para el 1-nitropireno y de -18.2 para el 1,8-dinitropireno, mientras que para el 1,6-dinitropireno fue de -51. Los valores para las pendientes de los dos primeros compuestos se parecen a los obtenidos con clorofilina y aquel del 1,6-dinitropireno es más parecido al obtenido con β -caroteno.

De este último experimento se puede concluir que no hay efectos aditivos o de potenciación entre la clorofilina y el β -caroteno a las dosis presentes en los vegetales comestibles como el chile.

Los experimentos descritos anteriormente muestran que el extracto de chile utilizado, posee elementos con propiedades antimutagénicas que pueden proteger de la acción genotóxica de mutágenos que se encuentran habitualmente en contacto con poblaciones humanas, sin embargo, también hacen evidente la presencia de factores que pueden potenciar su mutagenicidad. Al igual que con otros procesos biológicos antagonistas, el resultado final va a depender de las concentraciones de cada uno de los elementos involucrados y las condiciones del microambiente en que

interactúen. Sin embargo, es posible hacer algunas consideraciones teóricas: es probable que el efecto "activador" del homogenizado de chile sea el resultado de procesos enzimáticos que en general son dependientes de factores como el pH, concentración de sustrato, temperatura, etc. Por su parte, el mecanismo de acción de la clorofilina puede deberse a sus propiedades antioxidantes, que a su vez posiblemente involucran procesos enzimáticos o no enzimáticos (Sato y col. 1977, 1984) y por su condición de agente fotorreductor (Brune y Pietro, 1970), se ha propuesto que actúe como atrapador de radicales o interaccionando con grupos activos de compuestos mutagénicos (Ong y col. 1986). Estas últimas propiedades son de naturaleza química y dependen en menor grado de los factores que controlan los procesos enzimáticos.

Con respecto al β -caroteno, se sabe que su poder antimutagénico es menor que el de la clorofilina por lo menos en reacciones in vitro (Lai y col. 1980., Ong y col. 1986., Terwel y van der Hoeven, 1985). Sin embargo, gracias a su lipofilicidad puede representar un mejor mecanismo de defensa en membranas celulares y en el interior de los tejidos.

Debido al doble efecto encontrado, la única manera de esclarecer la acción total del chile sobre la genotoxicidad de contaminantes ambientales, es el recurrir a los modelos animales in vivo, como puede ser el ratón o la mosca de la fruta Drosophila melanogaster. Habrá que definir los compuestos mutagénicos que se usen como modelo, así como las vías de administración del antimutágeno. A este respecto es interesante señalar que un

extracto de chile, así como uno de sus alcaloides principales, producen efectos genotóxicos in vivo (Naghabushan y Bhide, 1985; Ramírez y col., 1991). En ensayos similares, la clorofilina protegió de los efectos genotóxicos del benzo[a]pireno (Velázquez y col., 1992).

Una última pregunta surge a raíz de los resultados presentados: ¿Son suficientes las concentraciones de antimutágenos que se consumen en la dieta diaria para contender con aquellas de mutágenos a las que se está expuesto cotidianamente?. Es difícil contestarla con los datos que se tienen hasta el momento, pero para alcanzar las concentraciones de clorofilas y carotenoides que mostraron un claro efecto anti-mutagénico in vitro, se deben consumir entre 100 y 300 g. de chile poblano.

6. CONCLUSIONES

- a) Las características enzimáticas de la cepa YG1024 le confieren una mayor sensibilidad para la detección de nitroarenos o mezclas complejas que los contienen.
- b) El extracto de chile utilizado en el presente estudio es débilmente mutagénico para la cepa YG1024, sin embargo, esto no interfiere para ser usada como organismo sensor en la búsqueda de antimutágenos de origen natural.
- c) El extracto de chile posee dos efectos sobre la mutagénesis inducida por nitroarenos puros o mezclas complejas que los contienen. Uno potenciador y otro inhibidor, los cuales dependen de la concentración del extracto.
- d) A concentraciones equivalentes de carotenoides y clorofilas totales encontradas en el extracto, el β -caroteno y la clorofilina presentan antimutagénesis en contra de tres nitroarenos y un extracto de partículas aéreas. La clorofilina mostró la mayor potencia antimutagénica.
- e) Los efectos antimutagénicos del β -caroteno y la clorofilina no son aditivos o sinérgicos, por lo menos a las concentraciones equivalentes a las contenidas en el extracto.

7. REFERENCIAS

- Ames, B.N; R. Magaw y L.S. Gold (1987) Ranking possible carcinogenic hazards. *Science* 236:271-280.
- Ames, B.N. y L. S. Gold (1990) Too many rodent carcinogens: Mitogenesis increases mutagenesis. *Science* 249:970-971.
- Ames, B.N. y L.S. Gold (1991) Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutation Res.* 250:3-16.
- Arey, J; B. Zielinska, R. Atkinson, A.M. Winer, T. Ramdahl y J.N. Pitts, Jr. (1986) The formation of nitro-PAH from the gas-phase reactions of fluoranthene and pyrene with the OH radical in the presence of NO_x. *Atmos. Environ.* 20:2339-2345.
- Armijo, R; A. Gonzalez, M. Orellana, A.H. Coulson, J.W. Sayre y R. Detel (1981) The epidemiology of gastric cancer in Chile: II. Nitrate exposures and stomach cancer frequency. *Int. J. Epidemiol.* 10:57-62.
- Barnes, W.S; J. Maiello y J.H. Weisburger (1983) In vitro binding of the food mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline to dietary fibers. *J. Natl. Cancer Inst.* 70:757-760.
- Bartsch, H; H. Oshima y B. Pignatelli (1988) Inhibitors of endogenous nitrosation. Mechanisms and implications in human cancer prevention. *Mutation Res.* 202:307-324.
- Bartsch, H; H. Oshima, B. Pignatelli y S. Calmels (1989) Human exposure to endogenous N-nitroso compounds: quantitative estimates in subjects at high risk for cancer of the oral cavity, oesophagus, stomach and urinary bladder. *Cancer Surveys* 8:335-362.
- Bjelke, E. (1974) Epidemiologic studies of cancer of the stomach, colon and rectum, with special emphasis on the role of diet. *Scand. J. Gastroenterol.* 9:1-253.
- Bristol, J.B; P.M. Emmett, K.W. Heaton y R.C.N. Williamson (1985) Sugar, fat, and the risk of colorectal cancer. *Br. Med. J.* 291:1467-1470.
- Brune, D. y A.S. Pietro (1970) Chlorophyllin-a catalyzed photoreduction of violet dyes (Kransnovsky Reaction). *Arch. Biochem. Biophys.* 141:371-373.
- Buchmann, R.L; S. Goldstein y J.P. Budroe (1982) Examination of chilli pepper and nutmeg oleoresins using Salmonella/mammalian microsome mutagenicity assay. *J. Food Sci.* 47:330-333.

Budros, J.D.; J.G. Shaddock y D.A. Casciano (1987) Modulation of ultraviolet light-, ethylmethanesulfonate-, and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced unscheduled DNA synthesis by retinol and retinoic acid in the primary rat hepatocyte. *Environ. Mol. Mutagen.* 10:129-139.

Cole, P (1971) Coffee drinking and cancer of the lower urinary tract. *Lancet* 1335-1337.

Comisión Nacional de Alimentación (1992) Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, México, D.F. México.

Chang, J.D; P.C Billings y A.R. Kennedy (1985) C-myc expression is reduced in antipain-treated proliferating C3H10 1/2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 133:830-835.

De Flora, S; C. Bennicelli, A. Camoirano, D. Serra, M. Romano, G.A. Rossi, A. Morelli y A. De Flora (1985) In vivo effects of N-acetylcysteine on glutathione metabolism and on biotransformation of carcinogenic and/or mutagenic compounds. *Carcinogenesis* 6:1735-1745.

De Flora, S; G.S. Badolati, D. Serra, A. Picciotto, M.R. Magnolia y V. Savarino (1987) Circadian reduction of chromium in the gastric environment. *Mutation Res.* 192:169-174.

De Flora, S y C. Ramel (1988) Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview. *Mutation Res.* 202:285-306.

De Flora, S; A. Camoirano, F. D'Agostini y R. Balansky (1992) Modulation of the mutagenic response in prokaryotes. *Mutation Res.* 267:183-192.

Fabricant, J. D; J. Boué y A. Boué (1978) Genetic studies on spontaneous abortion. *Contemporary Ob. Gynec.* 11:73.

Fearon, E. y B. Vogelstein (1990) A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61:759-767.

Gentile, J.M; G.J. Gentile, S. Townsend y M.J. Plewa (1985) In vitro enhancement of 4-nitrophenylenediamine by plant S9. *Enviro. Mutagen.* 7:73-85.

Gibson, T.L. (1983) Sources of direct-acting nitroarene mutagens in airborne particulate matter. *Mutation Res.* 122:115-121.

Graham, S; B. Haughey, J. Marshall, R. Priore, T. Byers, T. Rzepka, C. Mettlin y J.E. Pontes (1983) Diet in the epidemiology of carcinoma of the prostate gland. *J. Natl. Cancer Inst.* 70: 687-692.

Graham, S; J. Marshall, B. Haughey, A. Mittelman, M. Swanson, M. Zielezny, T. Byers, G. Wilkinson y D. West (1988) Dietary epidemiology of cancer of the colon in western New York. *Am. J. Epidemiol.* 128:490-503.

Haenszel, W; M. Kurihara; M. Segi y R.K.C. Lee (1972) Stomach cancer among Japanese in Hawaii. *J. Natl. Cancer Ins.* 49: 969-988.

Hartge, P; R. Hoover, D.W. West y J.L. Lyon (1983) Coffee drinking and risk of bladder cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 70: 1021-1026.

Hayatsu, H; S. Arimoto y T. Negishi (1988) Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Res.* 202:429-446.

Hirose, M; M.S. Lee, C.Y. Wang y C.M. King (1984) Induction of rat mammary gland tumors by 1-nitropyrene, a recently recognized environmental mutagen. *Cancer Res.* 44:1158-1162.

Hochstein, P. y A.S. Atallah (1988) The nature of oxidants and antioxidants systems in the inhibition of mutation and cancer. *Mutation Res.* 202:363-375.

Houk, V.S; S. Goto, O. Endo, L.D. Claxton, J. Lewtas y H. Matsushita (1992) Detection of direct-acting mutagens in ambient air: A comparison of two highly sensitive mutagenicity assays. *Environ. Mol. Mutagen.* 20:19-28.

Howe, G.R; J.D. Burch, A.B. Miller, G.M. Cook, J. Estève, B. Morrison, P. Gordon, L.W. Chambers, G. Fodor y G.M. Winsor (1980) Tobbacco use, occupation, coffee, various nutrients, and bladder cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 64:701-713.

IARC (1986) Monographs on The Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 40, Some naturally occurring and synthetic food components, furocoumarins and ultraviolet radiation. Lyon, pp. 223-288

IARC (1990) Cancer: Causes, Occurrence and Control, IARC Scientific Publications N°100, L. Tomatis (Ed.), Lyon, IARC, pp. 15-30

Jenssen, D. (1982) *Mutation Res.* 106: 291-296

Jensen, O.M; J. Wahrendorf, J.B. Knudsen y B.L. Sorensen (1986) The Vopenhagen case-control study of bladder cancer. II. Effect of coffee and other beverages. *Int. J. Cancer* 37: 651-657.

Kada, T; M. Kato; K. Aikawa y S. Kiriyaama (1984) Adsorption of pyrolysis mutagens by vegetable fibers. *Mutation Res.* 141: 149-152.

Kane, S.E; I. Pastan y M.M. Gottesman (1990) Genetic basis of multidrug resistance of tumor cells. *J. Bioenerg. Biomembr.* 22:

593-618.

Kitagawa, S; H. Seki, F. Kametani y H. Sakurai (1982) Chem. Biol. Interact. 40:265-274.

Kolonel, L.N; A.M.Y. Nomura, T. Hirohata, J.H. Hankin y M.W. Hinds (1981) Association of diet and place of birth with stomach cancer incidence in Hawaii Japanese and Caucasians. Am. J. Clin. Nutr. 34:2478-2485.

Kolonel, L.N; A.M.Y. Nomura, M.W. Hinds, T. Hirohata, J.H. Hankin y J. Lee (1983) Role of diet in cancer incidence in Hawaii. Cancer Res. 43:2397s-2402s.

Krishna, G; J. Nath, T. Ong y W-Z. Whong (1985) A simple method for the extraction of mutagens from airborne particles. Environ. Monitoring Assess. 5:393-398.

Lai, C.N; M.A. Butler y T.S. Matney (1980) Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. Mutation Res. 77:245-250.

Lichtenthaler, H.K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-383.

Lind, C; P. Hochstein y L. Ernster (1982) DT-Diaphorase as a quinone reductase: A cellular control device against semiquinone and superoxide radical formation. Arch. Biochem. Biophys. 216:178-185.

MacCann, J; E. Choi, E. Yamasaki y B.N. Ames (1975) Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. Proc. Natl. Acad. Sci. 72:5135-5139.

MacMahon, B; S. Yen, D. Trichopoulos, K. Warren y G. Nardi (1981) Coffee and cancer of the pancreas. New Engl. J. Med. 304:13-16.

Manabe, Y; T. Kinouchi y Y. Ohnishi (1985) Identification and quantification of highly mutagenic nitroacetoxypyrenes and nitrohydroxypyrenes in diesel-exhaust particles. Mutation Res. 158: 3-

Maron, D.M. y B.N. Ames (1983) Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Res. 113:173-215.

Martínez, I; R. Torres, Z. Frías, J. R. Colon y M. Fernandez (1979) Factors associated with adenocarcinomas of the large bowel. En: J. M. Birch, (Ed.), Advances in medical oncology, Research and Education, Vol. 3 Oxford, Pergamon, pp. 45-52.

Matsumoto, H. y H. Higa (1966) Studies on methylazoxymethanol, the aglycone of cycasin: Methylation of nucleic acids in vitro. Biochem. J. 98:20C-22C.

Miller, A.B; A. Kelly, N.W. Choi, V. Matthews, R.W. Morgan, L. Munan, J.D. Burch, J. Feather, G.R. Howe y M. Jain (1978) A study of diet and breast cancer. Am. J. Epidemiol. 107:499-509.

Miller, A.B; G.R. Howe, M. Jain, K.J.P. Craib y L. Harrison (1983) Food items and food groups as risk factors in a case-control study of diet and colorectal cancer. Int. J. Cancer 32: 155-161.

Morrison, A.S; J.E. Buring, W.G. Verhoek, K. Aoki, I. Leck, Y. Ohno y K. Obata (1982) Coffee drinking and cancer of the lower urinary tract. J. Natl. Cancer Inst. 68:91-94.

Nagabhushan, M. y S.V. Bhide (1985) Mutagenicity of chili extract and capsaicin in short-term tests. Environ. Mutagen. 7: 881-888.

National Academy of Sciences (1983) Polycyclic aromatic hydrocarbons: Evaluation of sources and effects. National Academy Press: Washington, D.C.

Negishi, T; y H. Hayatsu (1984) Inhibitory effect of saturated fatty acids on the mutagenicity of N-nitrosodimethylamine. Mutation Res. 135:87-96.

Nikolaou, K; P. Masclat y G. Mouvier (1984) Sources and chemical reactivity of polynuclear aromatic hydrocarbons in the atmosphere- A critical review. Sci. Total Environ. 32:103-132.

Nishioka, M.G; B.A. Petersen y J. Lewtas (1982) Comparison of nitro-aromatic content and direct-acting mutagenicity of diesel emissions. En: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Physical and Biological Chemistry, M. Cooke; A.J. Dennis y G.L. Fisher (Eds.) Battelle Press: Columbus, OH. pp. 603-613.

Ong, T; W. Whong, J. Steward y H.E. Brockman (1986) Chlorophyllin: a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixtures. Mutation Res. 173:111-115.

Owens, R.A. y P.E. Hartman (1986) Glutathione: A protective agent in Salmonella typhimurium and Escherichia coli as measured by mutagenicity and by growth delay assays. Environ. Mutagen. 8:659-673.

Peto, R; R. Doll; J.D. Buckley y M.B. Sporn (1981) Can dietary β -carotene materially reduce human cancer rates? Nature 290: 210-218.

Ramírez, L; E. Calderón, S. Díaz, B. Arceo y E. Madrigal (1991) Efecto de la capsaicina sobre la frecuencia de micronúcleos de sangre periférica de ratón, III Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Mutagénesis Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, Febrero 19-22, Metepec, Pue., México.

Reddy, B.S; Ch. Sharma, B. Simi, A. Engle, K. Laakso, P. Puska y R. Korpela (1987) Metabolic epidemiology of colon cancer: Effect of dietary fiber on fecal mutagens and bile acids in healthy subjects. *Cancer Res.* 47:644-648.

Reitsma, P.H; P.G. Rothberg, S. M. Astrin, J. Trial, Z. Bar-Shavit, A. Hall, S.L. Teitelbaum y A.J. Kahn (1983) Regulation of myc gene expression in HL-60 leukaemia cells by a vitamin D metabolite. *Nature* 306:492-494.

Robbat, A. Jr; H.P. Corso, P.J. Doherty y M.H. Wolf (1986) Gas chromatographic chemiluminescent detection and evaluation of predictive models for identifying nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons in a diesel fuel particulate extract. *Anal. Chem.* 58:2078-2084.

Rockwell, P. y I. Raw (1979) A mutagenic screening of various herbs, spices and food additives. *Nutr. Cancer* 1:10-15.

Romert, L y D. Jenssen (1983) Rabbit alveolar macrophage-mediated mutagenesis of polycyclic aromatic hydrocarbons in V79 Chinese hamster cells. *Mutation Res.* 111:245-252.

Sarin, R; R.K. Tandon, S. Paul, B.M. Gandhi, B.M. Kapur y K. Kapur (1985) Diet, body fat and plasma lipids in breast cancer. *Indian J. Med. Res.* 81:493-498.

Sato, M; N. Iguchi y T. Murata (1977) Effect of sodium cooper chlorophyllin on lipid peroxidation, I. Effect on lipid peroxidation in rat liver homogenates in the presence of both Fe^{2+} and L-ascorbic acid. *Yakugaku Zasshi* 97:268-273.

Sato, M; K. Imai, R. Kimura y T. Murata (1984) Effect of sodium copper chlorophyllin on lipid peroxidation. VI Effect of its administration on mitochondria and microsomal lipid peroxidation in rat liver. *Chem. Pharm. Bull.* 32:716-722.

Shane, B.S. y A.L. Looney (1989) Activation of two environmental mixtures by plant S9. *Mutation Res.* 222:9-18.

Shimizu, H; T.M. Mack, R. K. Ross y B.E. Henderson (1987) Cancer of the gastrointestinal tract among Japanese and white immigrants in Los Angeles country. *J. Natl. Cancer Inst.* 78:223-228.

Simon, D; S. Yen y P. Cole (1975) Coffee drinking and cancer of the lower urinary tract. *J. Natl. Cancer Inst.* 54:587-591.

Stockler, R; Y. Yamamoto, A.F. McDonagh, A.N. Glazer y B.N. Ames (1987) Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 235:1043-1045.

- Sugimura, T. (1990) Food as source of complex mixtures of mutagens and carcinogens. En: Complex mixtures and cancer risk. H. Vainio, M. Sorsa y A.J. McMichael (Eds.) Lyon, IARC, pp. 399-407.
- Takeuchi, M; M. Hara; T. Inoue y T. Kada (1988) Adsorption of mutagens by refined corn bran. Mutation Res. 204:263-267.
- Talalay, P (1989) Mechanisms of induction of enzymes that protect against chemical carcinogenesis. En: G. Weber (Ed.), Advances in Enzyme Regulation Vol. 28, pp. 237-250.
- Tannenbaum, S.R; D. Moran, W. Rand, C. Cuello y P. Correa (1979) Gastric cancer in Colombia: IV. Nitrite and other ions in gastric contents of residents from a high-risk region. J. Natl. Cancer Inst. 62:9-12.
- Terwel, L. y J.C.M. van der Hoeven (1985) Antimutagenic activity of some naturally occurring compounds towards cigarette-smoke condensate and benzo[a]pyrene in the Salmonella/microsome assay, Mutation Res. 152:1-4.
- Tokiwa, H; K. Morita, K. Takahashi e Y. Ohnishi (1977) Detection of mutagenic activity in particulate air pollutants. Mutation Res. 48:237-248.
- Tokiwa, H. e Y. Ohnishi (1986) Mutagenicity and carcinogenicity of nitroarenes and their sources in the environment, CRC, Critical Reviews Toxicology 17: 23-60.
- Toniolo, P; E. Riboli, F. Protta, M. Charrel y A.P.M. Cappa (1989) Calorie-providing nutrients and risk of breast cancer. J. Natl. Cancer Inst. 81:278-286.
- Velázquez, N; S. Díaz y E. Madrigal (1992) Acción inhibitoria de la clorofilina sobre la genotoxicidad del Benzo[a]pireno in vivo, IV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, Noviembre 15-18, Mazatlán, Sin., México.
- Watanabe, M; M. Ishidate y T. Nohmi (1989) A sensitive method for the detection of nitroarenes: construction of nitroreductase-overproducing derivatives of Salmonella typhimurium strains TA98 and TA100. Mutation Res. 216:211-220.
- Westin, E.H; F. Wong-Staal; E.P. Gelmann; R. Dalla Favera; T.S. Papas; J.A. Lautenberger, A. Eva; E.P. Reddy; S.R. Tronick; S.A. Aaronson y R.C. Gallo (1982) Expression of cellular homologues of retroviral oncogenes in human haematopoietic cells. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 79:2490-2494.
- Watanabe, M; M. Ishidate y T. Nohmi (1990) Sensitive method for the detection of mutagenic nitroarenes and aromatic amines: new derivatives of Salmonella typhimurium tester strains possessing elevated O-acetyltransferase levels. Mutation Res. 234: 349-354.

Wattenberg, L.W (1983) Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. *Cancer Res.* 43:2448-2453.

Weinstein, B.I. (1991) Mitogenesis is only one factor in carcinogenesis. *Science* 251:387-388.

Weinstein, B.I. (1988) The origins of human cancer: Molecular mechanisms of carcinogenesis and their implications for cancer prevention and treatment- twenty-seventh G.H.A. Clowes Memorial Award Lecture. *Cancer Res.* 48:4135-4143.

Wolff, S; V. Afzal, J.K, Wiencke, G, Olivieri and A. Michaeli (1988) Human lymphocytes exposed to low doses of ionizing radiations become refractory as well to chemical mutagens that induce double-strand breaks in DNA. *Int. J. Radiat. Biol.* 53: 39-48.

Wood, A.W; M. Huang, R.L. Chang, H.L. Newmark, R.E. Lehr, H. Yagi, J.M. Sayer, D.M. Jerina y A.H. Conney (1982) Inhibition of the mutagenicity of bay-region diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons by naturally occurring plant phenols: Exceptional activity of ellagic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79: 5513-5517.

Yu, M.C; J.H.C. Ho, S.H. Lai y B.E. Henderson (1986) Cantonese-style salted fish as a cause of nasopharyngeal carcinoma: report of a case-control study in Hong Kong. *Cancer Res.* 46:956-961.

Yu, M.C; C.C. Mo, W.X. Chong, F.S. Yeh y B.E. Henderson (1988) Preserved foods and nasopharyngeal carcinoma: a case-control study in Guangxi, China. *Cancer Res.* 48:1954-1959.

TABLA 1. MECANISMOS DE INHIBICION DE MUTAGENESIS.'

-Inhibidores que actúan extracelularmente:

- a) Inhibición de la captación de mutágenos o de sus precursores.
Impidiendo su penetración.
Favoreciendo su remoción.
- b) Inhibición de la formación endógena de mutágenos.
Inhibiendo las reacciones de nitrosación.
Modificando la flora microbiana intestinal.
- c) Desactivación de mutágenos por:
reacciones físicas.
reacciones químicas.
reacciones enzimáticas.

-Inhibidores que actúan intracelularmente:

- a) Moduladores del metabolismo.
Inhibiendo la replicación celular.
Favoreciendo la retención de mutágenos en células poco importantes para el desarrollo del proceso.
Inhibiendo la activación de pre-mutágenos.
 - b) Inducción de mecanismos de desintoxicación.
Bloqueo de moléculas reactivas.
Reacción química o enzimática con electrófilos.
Captación de especies activas del oxígeno.
Protección de sitios nucleofílicos en el ADN.
 - c) Moduladores de la replicación o reparación del ADN
Incrementando la fidelidad de la replicación del ADN.
Favoreciendo la reparación de ADN dañado.
Inhibiendo la reparación del ADN propensa a error.
-

Tabla II. Modulación de la actividad mutagénica de un extracto de partículas aéreas y de nitroarenos por un extracto de chile poblano

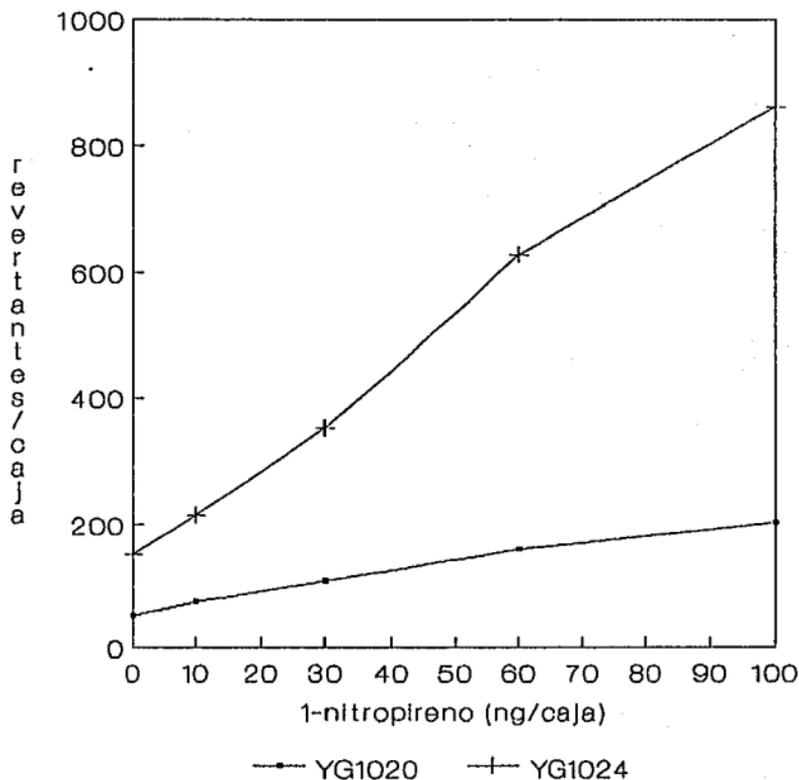
Extracto de chile (μ l/caja)	revertantes/caja ^a				
	Testigo	Extracto de partículas aéreas (6.6 m ³)	1-nitropireno (50 ng)	1,5-dinitropireno (0.2 ng)	1,8-dinitropireno (0.06 ng)
0	63.7 ± 11.0	369.6 ± 57.2	1129.5 ± 24.7	748.5 ± 130.8	497.5 ± 38.9
50		351.6 ± 34.3	-	-	-
100	70.7 ± 6.5	416.0 ± 62.6	-	-	-
250	115.3 ± 53.4	402.3 ± 23.0	2199.0 ± 118.5	999.5 ± 74.2	969.5 ± 34.6
500	96.0 ± 6.6	446.3 ± 95.1	2211.5 ± 539.5	1357.5 ± 38.9	1204.5 ± 17.6
750	133.0 ± 18.4	501.0 ± 72.1	2963.5 ± 430.6	1097.0 ± 46.6	632.0 ± 28.3
1000	143.6 ± 29.0	264.0 ± 63.2	1721.0 ± 271.5	910.0 ± 152.7	499.0 ± 89.1
β-caroteno (nMoles/caja)^b					
0	-	-	648.2 ± 92.6	1133.0 ± 110.5	440.1 ± 79.5
1.5	-	-	537.4 ± 57.2	1070.6 ± 198.3	386.0 ± 62.3
3.5	-	-	516.1 ± 65.8	886.0 ± 110.4	371.4 ± 57.2
5.0	-	-	532.8 ± 67.2	788.0 ± 101.9	375.9 ± 59.7
7.0	-	-	513.5 ± 40.0	782.7 ± 68.7	354.5 ± 80.4
Clorofilina (nMoles/caja)^b					
0	-	-	798.4 ± 229.4	697.2 ± 152.2	368.2 ± 119.8
3.0	-	-	573.9 ± 118.4	691.1 ± 187.2	223.3 ± 80.4
4.5	-	-	549.3 ± 101.8	550.8 ± 111.8	179.3 ± 77.1
7.0	-	-	499.2 ± 95.1	491.3 ± 126.9	183.0 ± 74.3
9.0	-	-	411.6 ± 100.4	422.0 ± 125.5	162.2 ± 84.5

48

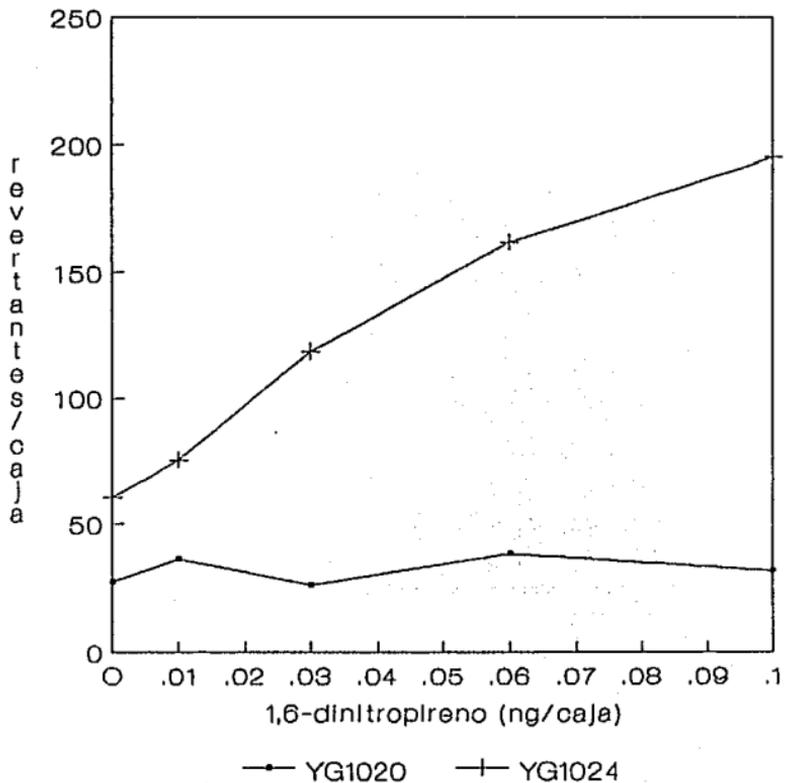
^a Cada valor en el promedio de colonias revertantes concentradas en seis cajas (dos experimentos independientes) ± desviación estandar

^b Concentraciones equivalentes a las encontradas en el extracto de chile.

Fig. 1. MUTAGENICIDAD DE 1-NP EN
Salmonella typhimurium



**Fig. 2. MUTAGENICIDAD DE 1,6-DNP
EN *Salmonella typhimurium***



**Fig. 3 MUTAGENICIDAD DE 1,8-DNP
EN *Salmonella typhimurium***

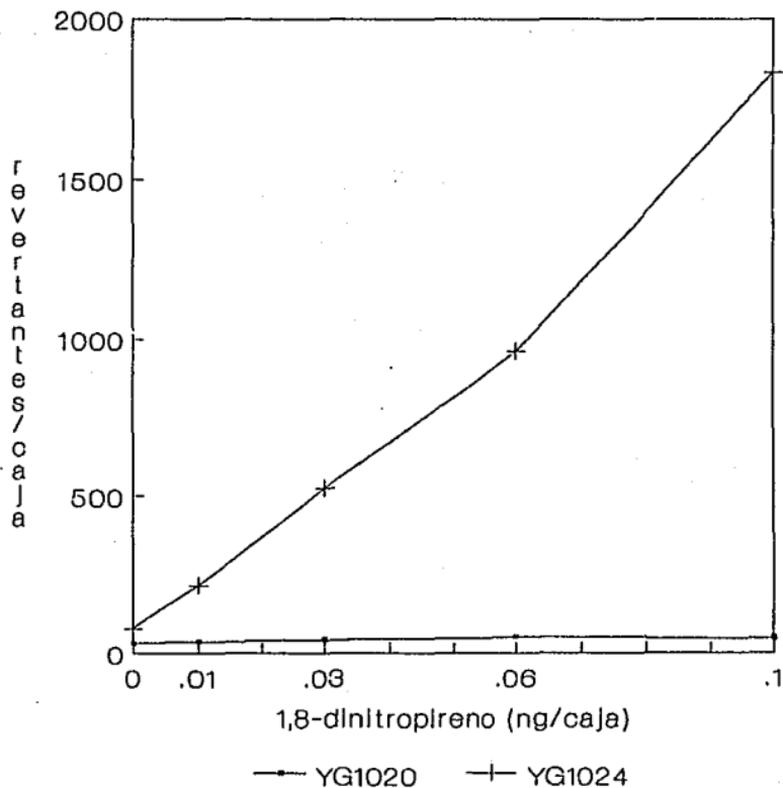
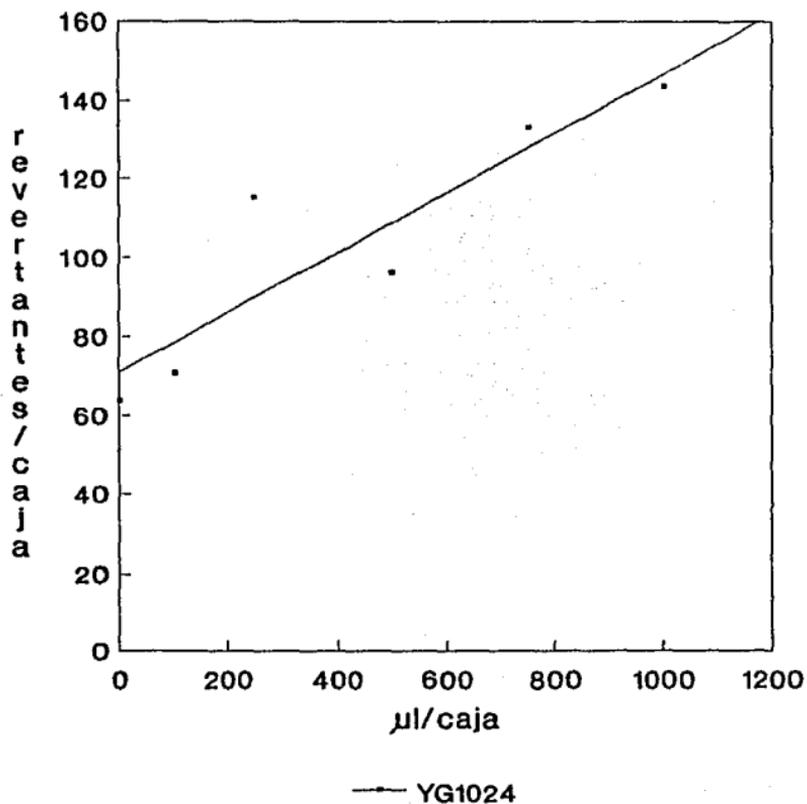


Fig. 4. MUTAGENICIDAD DE EXTRACTO DE CHILE EN *Salmonella typhimurium*



$r=0.82$

Fig. 5. MUTAGENICIDAD DE CAPSAICINA EN *Salmonella typhimurium* CEPA YG1024

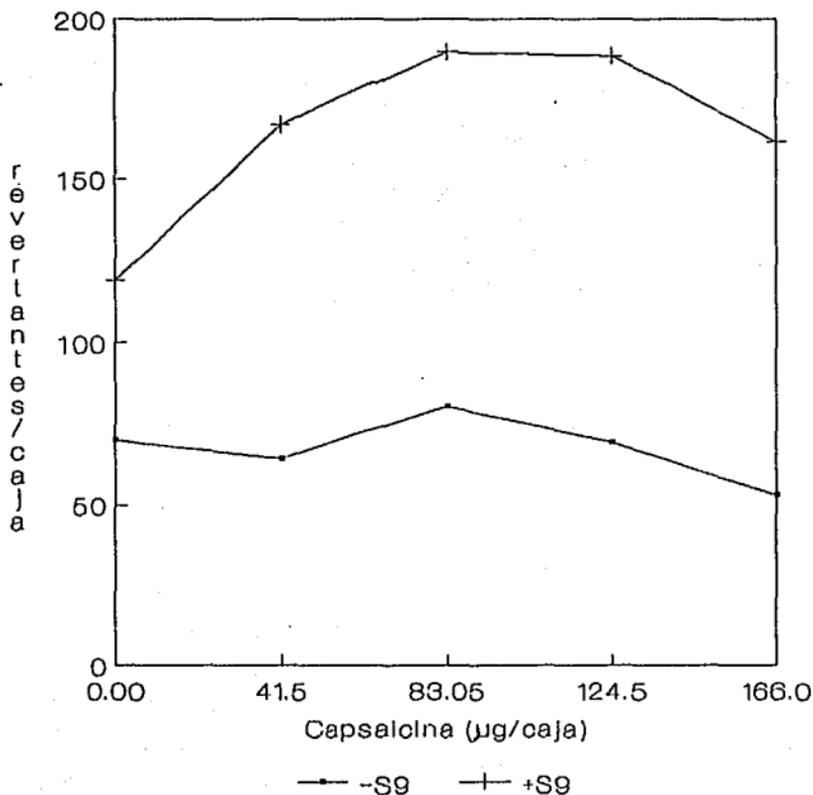
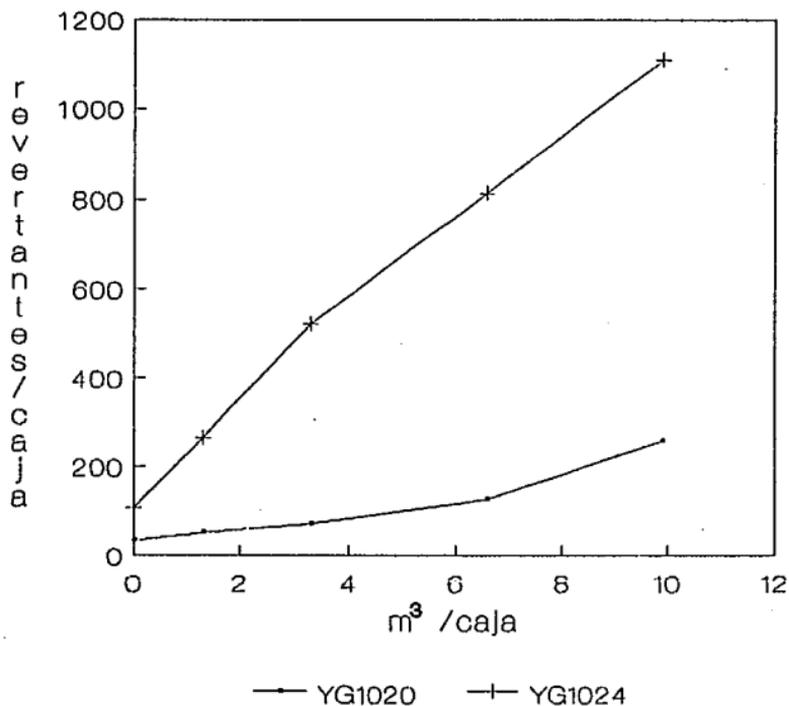


Fig. 6. MUTAGENICIDAD DE UN EXTRACTO DE PARTICULAS AEREAS EN *Salmonella typhimurium*



Extracto de filtro expuesto a partículas aéreas de la estación de muestreo "La Merced"

Fig. 7. EFECTO MODULADOR DEL EXTRACTO DE CHILE SOBRE LA MUTAGENICIDAD DE NITROARENOS EN LA CEPA YG1024 DE *S. typhimurium*

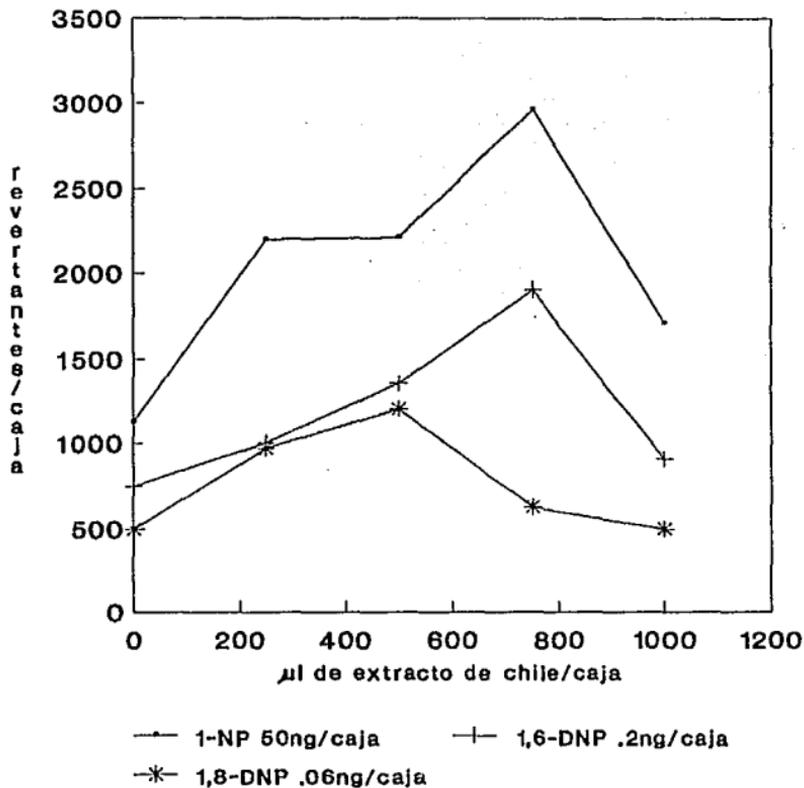
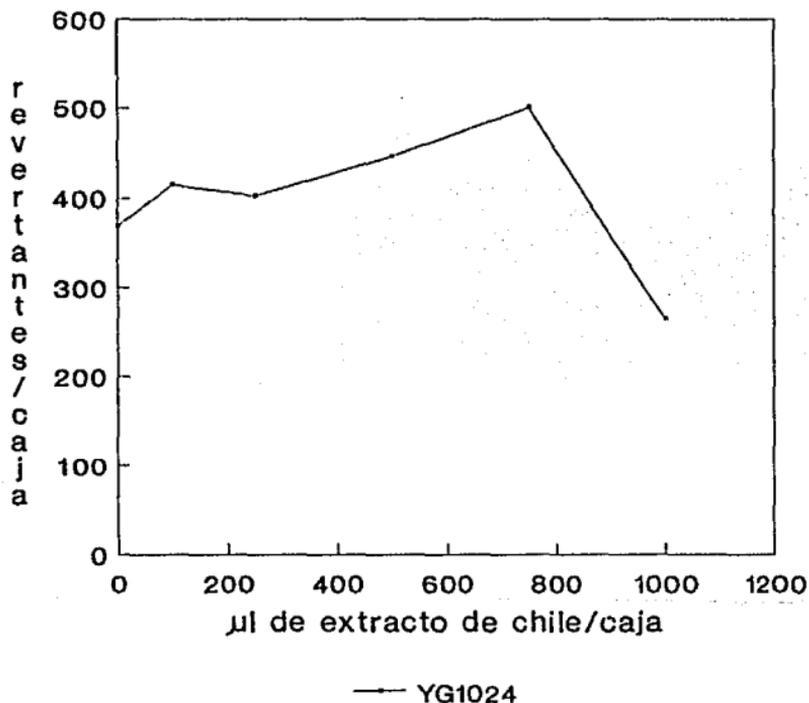
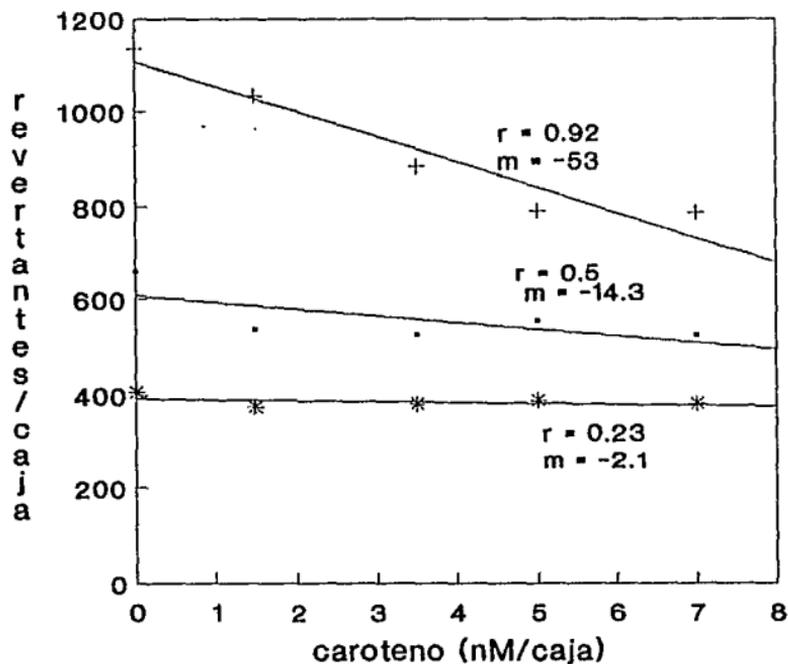


Fig. 8. EFECTO MODULADOR DEL EXTRACTO DE CHILE SOBRE LA MUTAGENICIDAD DE UN EXTRACTO DE PARTICULAS AEREAS



Todas las cajas contenían extracto de partículas aéreas correspondientes a un volumen de aire de 6.6 m

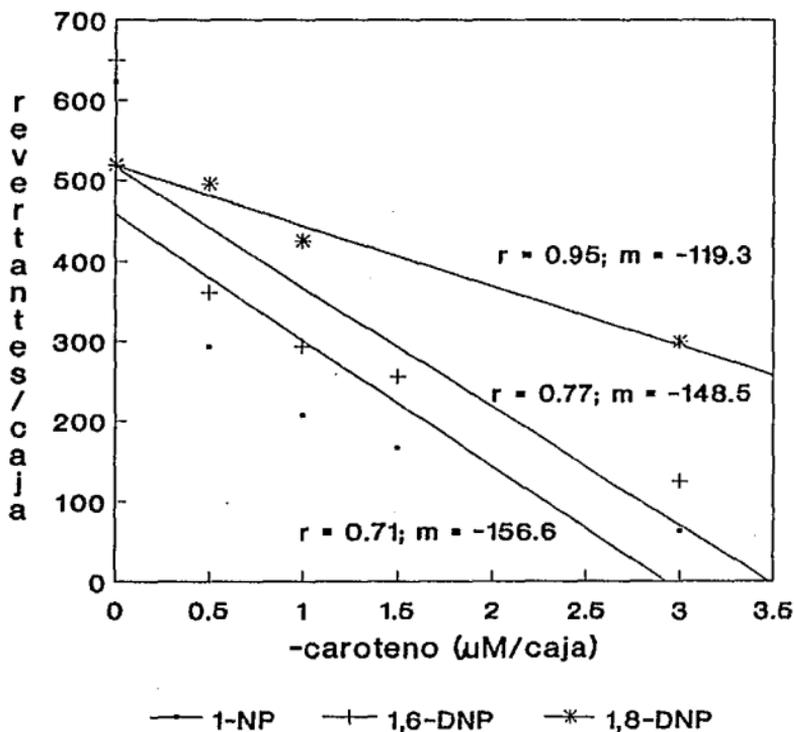
Fig. 9. EFECTO MODULADOR DEL β -CAROTENO SOBRE LA MUTAGENICIDAD DE NITROARENOS EN LA CEPA YG1024 DE *S. typhimurium*



—•— 1-NP —+— 1,6-DNP —*— 1,8-DNP

1-NP 50ng/caja r = coef. regresión
 1,6-DNP 0.2ng/caja m = pendiente
 1,8-DNP 0.06ng/caja

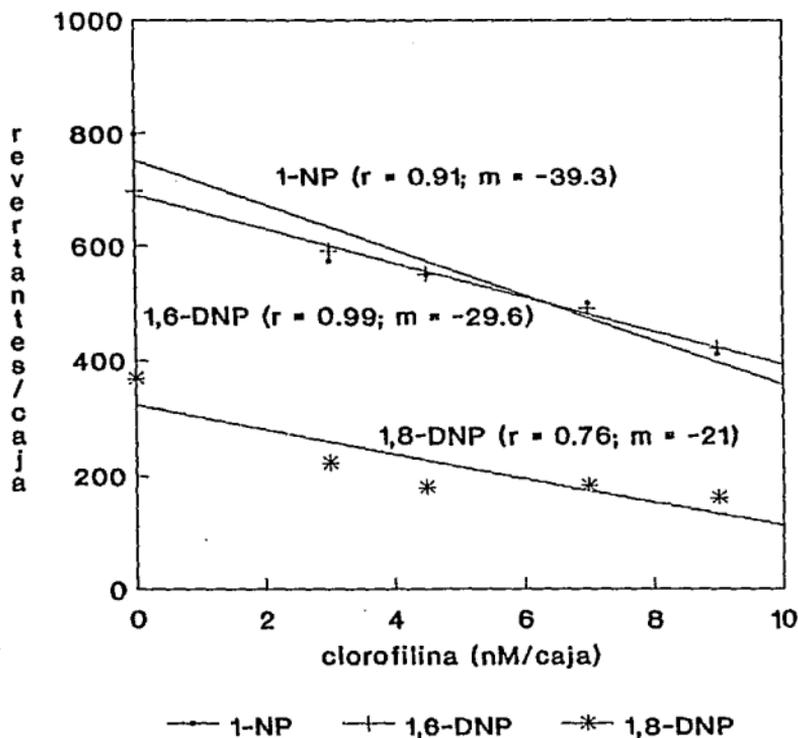
Fig. 10. EFECTO MODULADOR DEL β -CAROTENO SOBRE LA MUTAGENICIDAD DE NITROARENOS EN LA CEPA YG1024 DE *S. typhimurium*



1-NP 50ng/caja
 1,6-DNP 0.2ng/caja
 1,8-DNP 0.06ng/caja

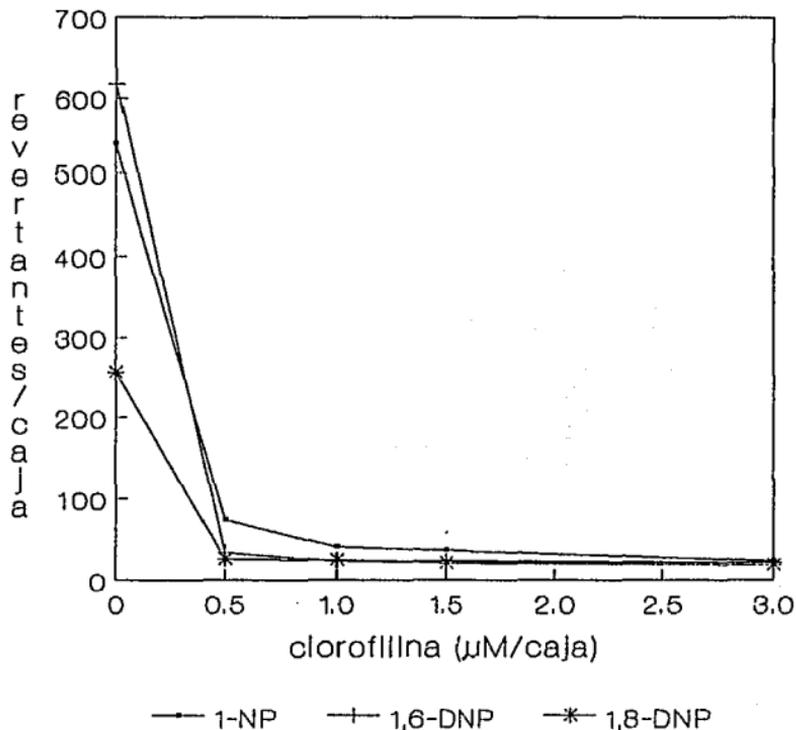
r = coef. regresión
 m = pendiente

Fig. 11. EFECTO MODULADOR DE LA CLOROFILINA SOBRE LA MUTAGENICIDAD DE NITROARENOS EN LA CEPA YG1024 DE *S. typhimurium*



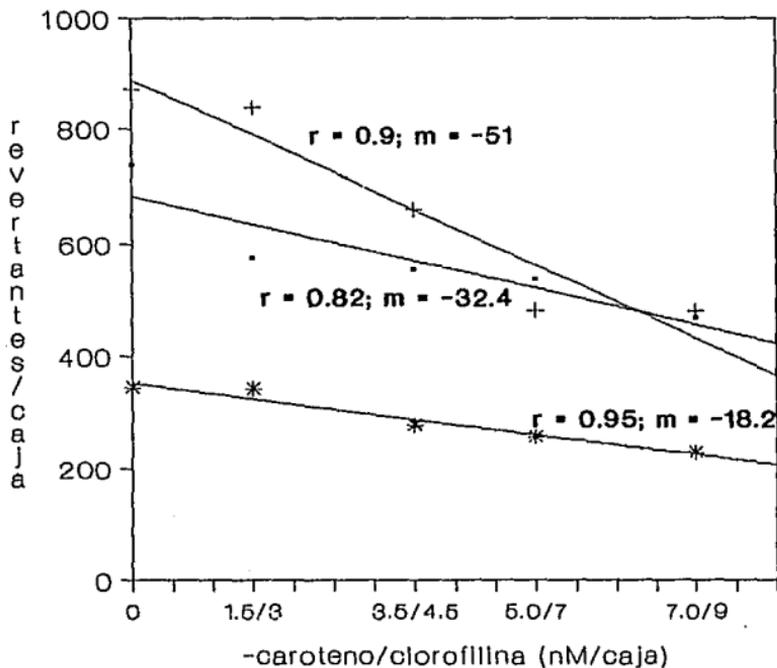
1-NP 50ng/caja $r =$ coef. regresión
1,6-DNP 0.2ng/caja $m =$ pendiente
1,8-DNP 0.06ng/caja

Fig. 12. EFECTO MODULADOR DE LA CLOROFILINA SOBRE LA MUTAGENICIDAD DE NITROARENOS EN LA CEPA YG1024 DE *S. typhimurium*



1-NP 50ng/caja
1,6-DNP 0.2ng/caja
1,8-DNP 0.06ng/caja

Fig. 13. EFECTO MODULADOR DE LA COMBINACION DE β -CAROTENO/CLOROFILINA SOBRE LA MUTAGENICIDAD DE NITROARENOS



— 1-NP + 1,6-DNP * 1,8-DNP

1-NP 50ng/CAJA r= coef. regresión
 1,6-DNP 0.2ng/caja m= pendiente
 1,8-DNP 0.06ng/caja