

Pruebas de cito y genotoxicidad *in vitro*

Karla Verenice Dávalos de la Cruz*, Ma. de los Angeles Aguilar Santamaría

*karladavalos@xanum.uam.mx

Citotoxicidad: Este término se refiere a la capacidad que tiene algún agente físico, químico o biológico para alterar la estructura o el funcionamiento de una célula, es decir, que tiene la capacidad de alterar la integridad celular.

Genotoxicidad: Es también un efecto citotóxico pero, en particular, al material hereditario, ya sea a nivel cromosómico, de ADN e, incluso de nucleótidos, razones por las que resulta de particular importancia evaluarla.

En el **Laboratorio de Genética** del **Departamento de Ciencias de la Salud** se han establecido procedimientos que permiten determinar y evaluar la posible toxicidad de agentes físicos, químicos y biológicos desde hace varios años. Los agentes potencialmente tóxicos que se han sometido a prueba han sido diversos, desde compuestos y extractos vegetales, ambos de uso cotidiano, hasta materiales diseñados en diferentes centros de investigación nacionales para una posible aplicación biomédica además de algunos agentes contaminantes de cuerpos de agua dulce.

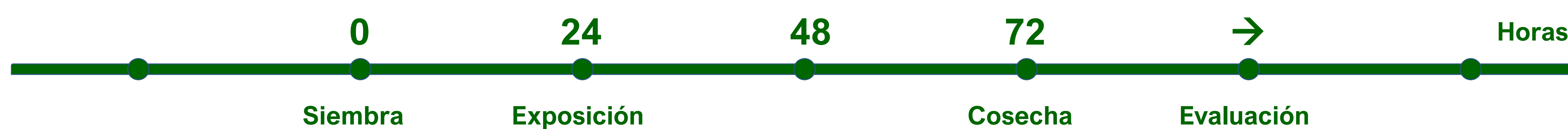
El **Objetivo** común en todos esos estudios ha sido determinar el efecto de un agente particular sobre la supervivencia de las células así como su integridad estructural y funcional mientras que las **principales metas** a alcanzar, son las de evaluar diferentes parámetros *in vitro* para establecer si la exposición a ese agente tiene efectos a nivel celular, subcelular o molecular.

Modelo de estudio: el cultivo de linfocitos humanos de sangre periférica, ampliamente empleado debido a las ventajas que presenta:

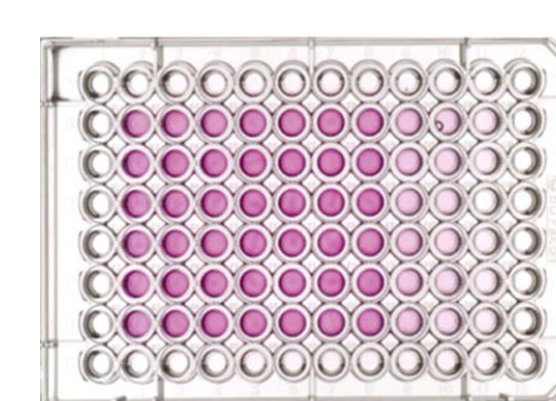
- ❖ Fácil obtención y manejo
- ❖ Evaluación de diferentes parámetros
- ❖ Obtención de resultados en corto tiempo

Estrategia: Las principales etapas son:

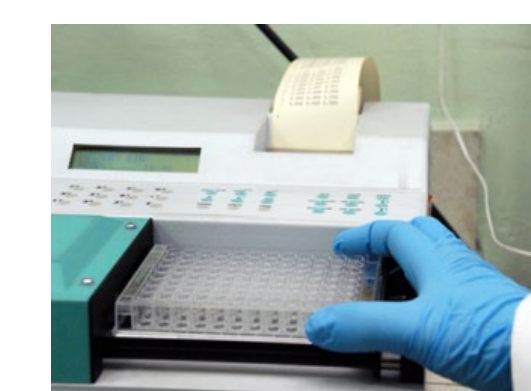
- ❖ Cultivo de linfocitos T de voluntarios sanos, entre 20 y 35 años de edad, sanos.
- ❖ Integración de lotes testigo (positivo y negativo) y lotes experimentales (por triplicado)
- ❖ Exposición al agente durante las últimas 48 h de cultivo (dos ciclos de replicación)
- ❖ Evaluación de parámetros



Ensayo	Parámetro
Incorporación de rojo neutro	Evalúa viabilidad a través de la actividad metabólica lisosomal
Incorporación de MTT y transformación a formazán.	Efecto citotóxico sobre la actividad mitocondrial.
Índice mitótico	Marcador de alteración del ciclo celular.
Frecuencia de alteraciones en el número y estructura de los cromosomas	Marcadores de genotoxicidad a nivel cromosómico.
Intercambio de cromátidas hermanas	Refleja daño y reparación del ADN
Cinética de proliferación celular	Alteración de la duración del ciclo celular.
Ensayo cometa	Indicador de rompimientos en una o ambas cadenas del ADN



Ensayo Rojo Neutro



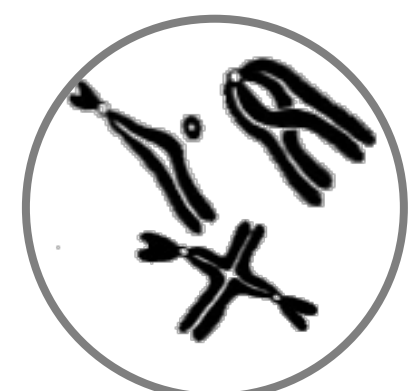
Ensayo MTT



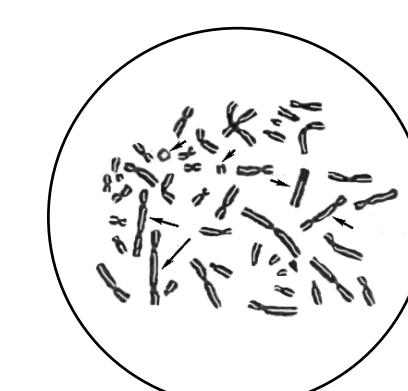
Índice mitótico



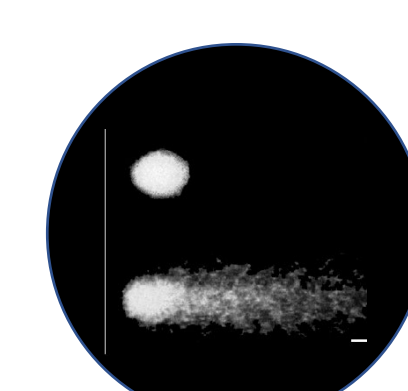
Alteraciones Cromosómicas Numéricas



Alteraciones Cromosómicas Estructurales



Intercambio de cromátidas hermanas



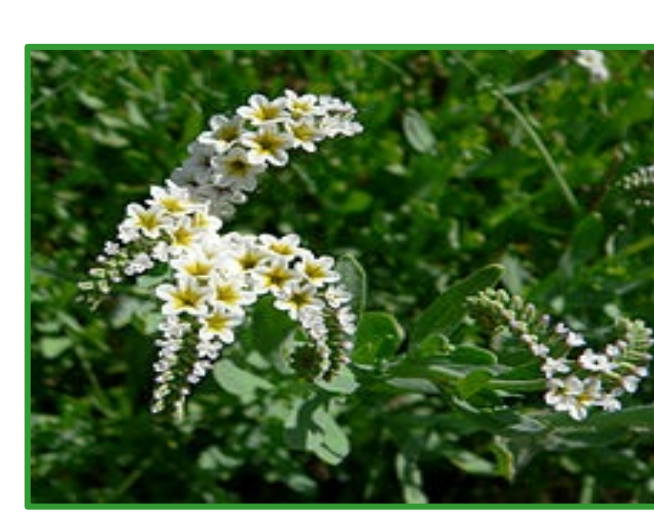
Ensayo Cometa



Satureja macrostema



Psacallium peltatum



Heliotropium curassavicum



Stenocereus pruinosus



Hidrogeles de Quitosan



Nukbone®



Zeolita



Espojas de colágena



Colágena de Tendón de bovino



Polímero con nanoarcillas

Algunas colaboraciones

Agente(s)	Parámetros evaluados
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Extractos de vegetales de uso medicinal (<i>Psacallium peltatum</i> (matarique), <i>Heliotropium curassavicum</i> (cola de alacrán) y aceite de Neem). ❖ Recubrimiento de frutos de <i>S. pruinus</i> (pitaya) a base de quitosano ❖ Hidrogeles a base de quitosano 	<ul style="list-style-type: none"> Índice mtótico Alteraciones cromosómicas Ensayos de rojo neutro y MTT Índice mitótico Alteraciones cromosómicas
<i>División CBS, UAM Iztapalapa</i>	
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Material de relleno óseo: Nukbone® ❖ Zeolita sintética para regeneración de la piel. ❖ Espojas de colágena y colágena de tendón de bovino 	<ul style="list-style-type: none"> Índice mitótico Alteraciones cromosómicas Intercambio de cromátidas hermanas Ensayo cometa
<i>Instituto de Investigaciones en Materiales, UNAM</i>	
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Substitutos de piel elaborados con poliuretano + siloxano ❖ Recubrimiento de válvulas cardiacas: poliuretano + nanoarcillas 	<ul style="list-style-type: none"> Ensayos de rojo neutro y MTT Índice mtótico Alteraciones cromosómicas Intercambio de cromátidas hermanas Ensayo cometa
<i>Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán (CICY)</i>	