



Universidad Nacional de Chimborazo
Facultad de Ciencias de la Salud
Carrera de Enfermería
Biología

9,65/10

UNIDAD I

APRENDIZAJE AUTÓNOMO COLABORATIVO

Paralelo: _A_ Grupo No. : _1_

FECHA: 19/05/2025

Tema artículo científico sobre: Célula eucariota

Título del Artículo Científico: Estudios de genotoxicidad de antibióticos antitumorales en células eucariota

Autores: Alejandro D. Bolzán, Martha S. Bianchi, Julieta Sánchez

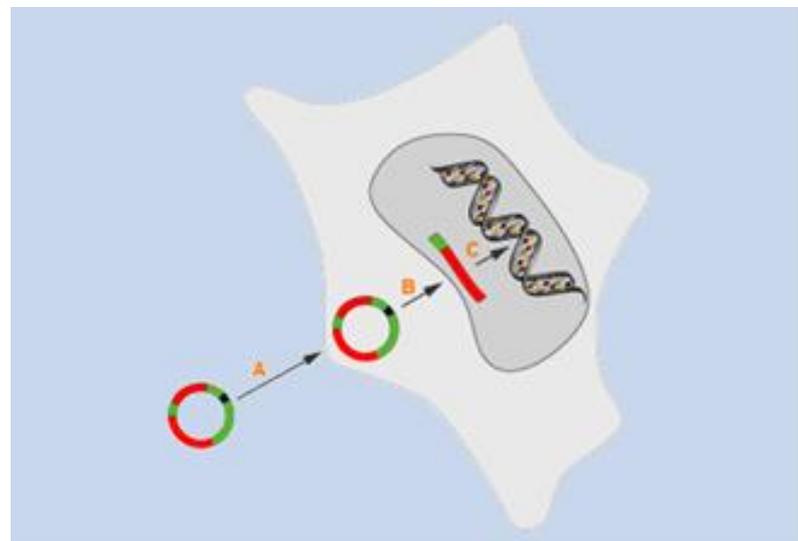
Publicado en la Revista: Journal of Basic and applied genetics

Año: 2011 Volumen: 22 Número: 7 Paginas: 6

APELLIDOS Y NOMBRES	No. DE CÉDULA
APUNTE CONSTANTE EMILIO ALEXANDER	050349157-3
AYALA TROYA MAYERLIN NATALIA	050436783-0
CAMPOVERDE VELOZ SASA ABIGAIL	172709709-7
CARRERA TORRES MIRELLY DANISSA	060611827-1

INTRODUCCIÓN:

La investigación destaca que la BLM y la EN son compuestos radiomiméticos capaces de inducir daño directo en el ADN y los cromosomas mediante la generación de radicales libres. Por otro lado, la EZ, aunque también libera radicales libres, actúa principalmente como un agente alquilante y es comúnmente utilizada para inducir diabetes mellitus en ratas de laboratorio



MATERIALES Y MÉTODOS:

Para la realización del estudio se utilizaron los siguientes materiales:

- **Antibióticos antitumorales:**

- Bleomicina (BLM)
- Estreptonigrina (EN)
- Estreptozotocina (EZ)

- **Líneas celulares de mamíferos:**

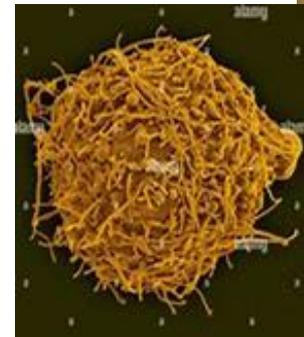
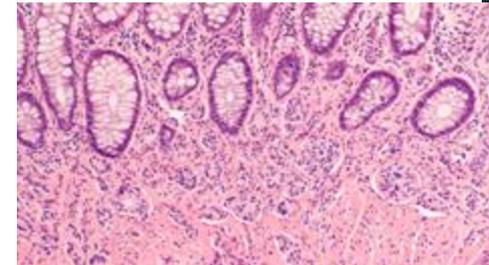
- Células CHO (ovario de hámster chino).
- Líneas celulares derivadas de carcinoma neuroendócrino de colon humano (COLO320DM y COLO320HSR).

- **Líneas celulares de insectos:**

- Línea ATC-15 derivada de larvas de *Aedes albopictus*.

- **Linfocitos humanos:**

- Linfocitos estimulados con fitohemaglutinina
- Linfocitos no estimulados en etapa G0



MATERIALES Y MÉTODOS:

Para evaluar los efectos genotóxicos de los antibióticos mencionados, se emplearon los siguientes métodos experimentales:

Tratamientos experimentales:

- Las células fueron expuestas a concentraciones variables de Bleomicina (BLM), Estreptonigrina (EN) y Estreptozotocina (EZ) para inducir daño genotóxico.

Evaluación del daño genético:

- Análisis de aberraciones cromosómicas (AC)
- Intercambios de cromátidas hermanas (ICH)
- Ensayo Cometa
- Hibridación In Situ Fluorescente

Modulación del daño genotóxico:

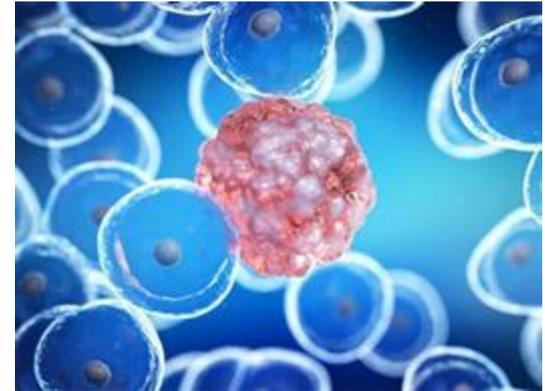
- Se realizaron tratamientos con antioxidantes y fenantrolina.

Protocolos

- Cultivos celulares tratados con fenantrolina antes de la exposición a antibióticos
- Cultivos de 24-72 horas de duración para linfocitos de sangre periférica
- Cultivos de sangre total y de linfocitos aislados

Estudio en fases específicas del ciclo celular:

1. Análisis de daño cromosómico en fase G0 (período prerreplicativo)
2. Análisis de daño cromosómico en fase G2 (período de reparación postreplicativa)



RESULTADOS:

Los resultados obtenidos tras aplicar distintos inhibidores (antioxidantes en liposomas y fenantrolina) a las células tratadas con Estreptonigrina (EN) y Estreptozotocina (EZ), con el objetivo de evaluar si estos disminuyen el daño genético.

Resultados con Estreptonigrina (EN)

Inhibidor	Tipo de célula	Aberraciones cromosómicas (AC)	Intercambio de cromátidas hermanas (ICH)
Antioxidantes en liposomas	CHO (mamífero)	Reducción significativa	Reducción significativa
Fenantrolina (quelante de metales)	CHO (mamífero)	Reducción significativa	Reducción significativa

En ambos casos, los inhibidores lograron **disminuir significativamente** el daño genético inducido por la EN.

RESULTADOS:

Los resultados obtenidos tras aplicar distintos inhibidores (antioxidantes en liposomas y fenantrolina) a las células tratadas con Estreptonigrina (EN) y Estreptozotocina (EZ), con el objetivo de evaluar si estos disminuyen el daño genético.

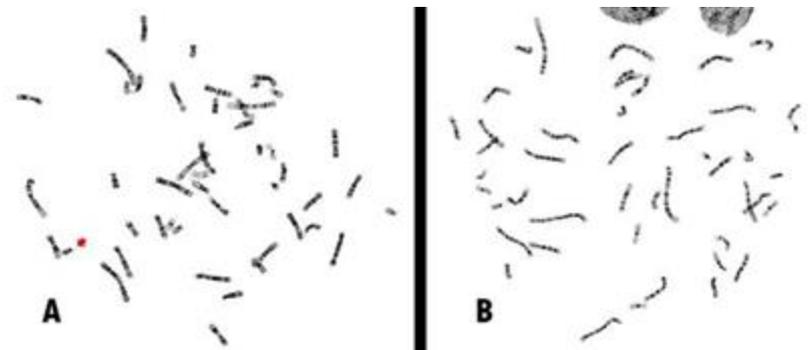
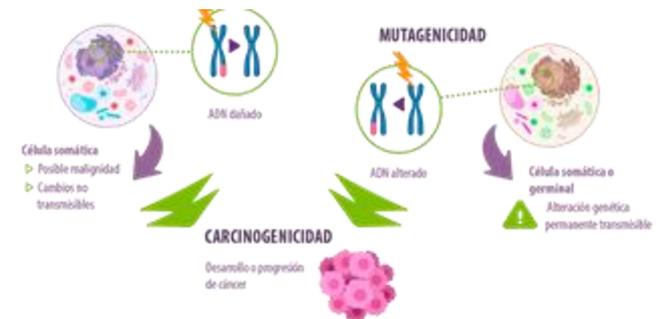
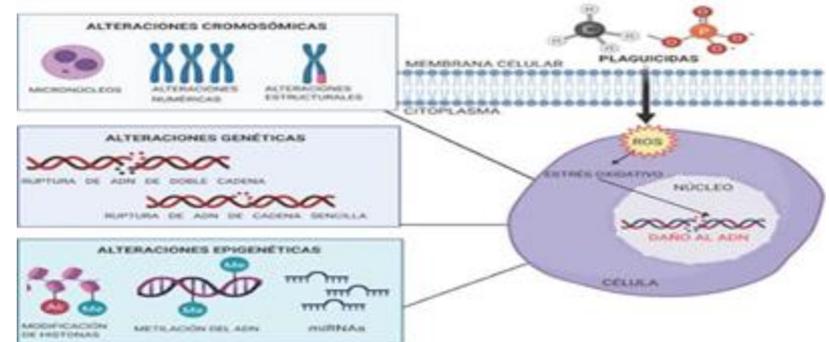
Resultados con Estreptozotocina (EZ)

Inhibidor	Tipo de célula	Aberraciones cromosómicas (AC)	Intercambio de cromátidas hermanas (ICH)
Antioxidantes en liposomas	CHO (mamífero)	Reducción significativa	Reducción significativa
Antioxidantes en liposomas	Células de mosquito (insecto)	Reducción moderada	Reducción moderada
Fenantrolina	CHO (mamífero)	Reducción significativa	No hubo reducción

La fenantrolina **no logró inhibir los ICH** causados por EZ, lo que sugiere un mecanismo diferente.

CONCLUSIÓN DE LOS RESULTADOS:

- Los inhibidores aplicados (antioxidantes en liposomas y fenantrolina) lograron reducir las aberraciones cromosómicas y los ICH inducidos por EN y EZ, con una excepción importante.
- En el caso de los ICH causados por la Estreptozotocina (EZ), la fenantrolina no fue capaz de inhibirlos, lo que indica que este tipo de daño no depende del mismo mecanismo (como metales o radicales libres).
- Esto permite suponer que el mecanismo de acción genotóxica de EZ sobre los ICH es distinto al de las aberraciones cromosómicas, posiblemente independiente del estrés oxidativo o la participación de metales.



5. DISCUSIÓN

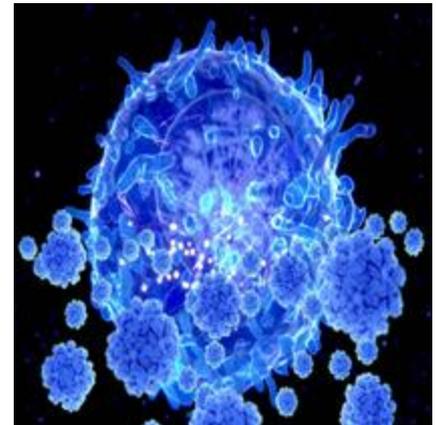
Interpretación de los hallazgos:

- El daño genético causado por EN y EZ puede reducirse con antioxidantes y quelantes, lo que sugiere que **radicales libres y metales de transición** están implicados.
- Las **células de insecto presentan mayor resistencia** al daño que las de mamífero, posiblemente por diferencias en la cromatina y defensas antioxidantes.
- La **EZ no genera muchas aberraciones cromosómicas en linfocitos humanos**, pero sí causa gran daño en células tumorales de colon.
- El **interferón alfa recombinante 2a inhibe el daño cromosómico** inducido por BLM, EN y EZ, especialmente en la fase G2 del ciclo celular.
- Los ensayos realizados en personal aeronáutico mostraron una **mayor sensibilidad a BLM y más daño genético espontáneo**, lo que indica riesgo ocupacional.
- Se observó que BLM, EN y EZ inducen **rupturas, translocaciones y fragmentos incompletos en telómeros y secuencias intersticiales**, lo que evidencia **inestabilidad genómica**.



6. CONCLUSIONES

- La genotoxicidad de EN y EZ está mediada por radicales libres y metales intracelulares, confirmada por la reducción del daño al usar antioxidantes y quelantes.
- Las células de insecto muestran mayor resistencia que las de mamífero, posiblemente por diferencias estructurales y bioquímicas.
- La estreptozotocina (EZ) provocó bajo daño en linfocitos humanos, pero alto en células tumorales, lo que sugiere un posible uso en cáncer de colon.
- El interferón alfa recombinante 2a redujo significativamente el daño cromosómico, especialmente en la fase G2 del ciclo celular.
- El personal aeronáutico presentó mayor daño genético espontáneo, por lo que estos ensayos podrían ser útiles para evaluar riesgos ocupacionales.
- BLM, EN y EZ afectan telómeros y secuencias teloméricas intersticiales, generando inestabilidad cromosómica.





Estudios de genotoxicidad de antibióticos antitumorales en células eucariotas

Alejandro D. Bolzán, Martha S. Bianchi, Julieta Sánchez

Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, Instituto Multidisciplinario de Biología
Celular (IMBICE, CCT-CONICET La Plata / CICPBA)
C.C. 403, 1900, La Plata, Argentina.

abolzan@imbice.org.ar

ABSTRACT

During the past 20 years, the Laboratory of Cytogenetics and Mutagenesis at IMBICE has developed various studies to analyze the genotoxicity caused by different chemical mutagens to eukaryotic cells. Research has mainly focused on the analysis of the genotoxic mechanisms involved and the effects caused by three antibiotics of known antitumor properties, bleomycin (BLM), streptonigrin (EN), and streptozotocin (EZ). Several cell lines and human peripheral blood lymphocytes were used as experimental models. Currently, our studies are devoted to analyze the effects of those antibiotics on telomeres and interstitial telomeric sequences of vertebrate chromosomes. Since BLM and EN exert direct damage on DNA and chromosomes by free radicals release, these antibiotics are considered radiomimetic compounds. EZ is frequently used to induce *diabetes mellitus* in laboratory rats, and though it exerts its genotoxic action partially by free radical release, in contrast to BLM and EN, it is an alkylating agent. The present work summarizes the most significant results obtained during the last 15 years by the research group at the Laboratory of Cytogenetics and Mutagenesis (IMBICE) on the genotoxic effects of the antibiotics above mentioned.

Key words: Genotoxicity, bleomycin, streptonigrin, streptozotocin, telomere

RESUMEN

En el Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis del IMBICE, se llevan a cabo desde hace más de 20 años estudios tendientes a analizar la genotoxicidad de diversos mutágenos químicos en células eucariotas. En este contexto, las investigaciones han estado centradas principalmente en el análisis de los efectos genotóxicos de tres antibióticos que poseen propiedades antitumorales, la bleomicina (BLM), la estreptonigrina (EN) y la estreptozotocina (EZ) sobre células de mamífero e insecto y de los mecanismos involucrados en la genotoxicidad inducida por dichos compuestos. Los estudios fueron realizados utilizando diversas líneas celulares y linfocitos de sangre periférica humana como modelos experimentales. En la actualidad, las investigaciones están orientadas a analizar los efectos de los antibióticos antemencionados sobre los telómeros y secuencias teloméricas intersticiales de los cromosomas de vertebrados. La BLM y la EN son considerados compuestos radiomiméticos por su capacidad de ejercer daño directo en el ADN y cromosomas a través de la generación de radicales libres. Por otra parte, la EZ es un antibiótico comúnmente utilizado para inducir *diabetes mellitus* en ratas de laboratorio y, si bien ejerce su acción genotóxica parcialmente mediante la liberación de radicales libres, a diferencia de la BLM y la EN, es un agente alquilante. En este trabajo, se resumen los principales resultados obtenidos en los últimos 15 años en el Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis del IMBICE acerca de los efectos genotóxicos de los antibióticos mencionados.

Palabras clave: Genotoxicidad, bleomicina, estreptonigrina, estreptozotocina, telómero

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 15 años, las investigaciones llevadas a cabo en el Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis del IMBICE por nuestro grupo de trabajo estuvieron centradas principalmente en el análisis de los efectos genotóxicos de tres antibióticos que poseen propiedades antitumorales, la bleomicina (BLM, aislada de *Streptomyces verticillus*), la estreptonigrina (EN, aislada de *Streptomyces flocculus*) y la estreptozotocina (EZ, aislada de *Streptomyces achromogenes*) sobre células de mamífero e insecto y de los mecanismos involucrados en la genotoxicidad inducida por dichos compuestos. Los estudios fueron realizados utilizando diversas líneas celulares y linfocitos de sangre periférica humana como modelos experimentales. La BLM y la EN son considerados compuestos radiomiméticos por su capacidad de ejercer daño directo en el ADN a través de la generación de radicales libres (para una revisión acerca de los efectos genotóxicos de la BLM y la EN véase Povirk y Austin, 1991 y Bolzán y Bianchi, 2001, respectivamente). Por otra parte, la EZ es un antibiótico comúnmente utilizado para inducir diabetes *mellitus* en ratas de laboratorio y, si bien ejerce su acción genotóxica parcialmente mediante la liberación de radicales libres, a diferencia de la BLM y la EN, es un agente alquilante (para una revisión acerca de los efectos genotóxicos de la EZ véase Bolzán y Bianchi, 2002a). A continuación, se resumen los principales resultados obtenidos en los últimos 15 años en el Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis del IMBICE acerca de los efectos genotóxicos de los antibióticos mencionados.

APORTES PRINCIPALES AL CONOCIMIENTO CIENTÍFICO REALIZADOS A PARTIR DE LOS TRABAJOS PUBLICADOS SOBRE EL TEMA

Mecanismos involucrados en la genotoxicidad de los antibióticos EN y EZ. Posible rol de los radicales libres en la acción clastogénica de dichos antibióticos.

Con el fin de profundizar en los mecanismos involucrados en la genotoxicidad de los antibióticos EN y EZ y establecer si la acción clastogénica de los mismos está mediada por radicales libres y me-

tales de transición, se realizaron estudios de daño cromosómico en células de mamífero e insecto expuestas *in vitro* a dichos antibióticos pero tratadas previamente con compuestos antioxidantes (Testoni *et al.*, 1997; Bolzán y col., 1998a) y con el agente quelante de iones metálicos fenantrolina (Bolzán *et al.*, 2000 y 2001a). Se analizaron los efectos de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa y catalasa y del compuesto barrador de radicales hidroxilo manitol sobre la genotoxicidad inducida por la EN en células de mamífero y por la EZ en células de mamífero e insecto. Se observó que la adición *in vitro* de compuestos antioxidantes encapsulados en liposomas produjo una disminución significativa en la frecuencia de aberraciones cromosómicas (AC) y en el daño al ADN (medido a través del llamado “ensayo cometa”) inducidos por EN en células CHO (línea celular derivada de ovario de hámster chino) (Testoni *et al.*, 1997) y en la frecuencia de AC inducidas por EZ en células CHO y de mosquito (línea celular ATC-15, derivada de larvas de *Aedes albopictus*), siendo el efecto mayor en células CHO que en células de mosquito (Bolzán y col., 1998a). Por otra parte, la adición de fenantrolina produjo una disminución significativa en la frecuencia de AC e intercambios de cromátidas hermanas (ICH) inducidos *in vitro* por la EN en células CHO (Bolzán y col., 2001a) y una disminución significativa en la frecuencia de AC pero no de ICH inducidos *in vitro* por la EZ en células CHO y de mosquito (Bolzán *et al.*, 2000). Estos resultados demostraron que la acción genotóxica de ambos antibióticos *in vitro* puede ser fuertemente inhibida mediante la incorporación de compuestos antioxidantes y/o fenantrolina al cultivo celular y permitieron sugerir que el efecto clastogénico de la EN y de la EZ está mediado por radicales libres y metales de transición intracelulares y que la reacción de Fenton ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{OH}^* + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$) podría ser responsable de la producción de AC por estos antibióticos. Asimismo, el hecho de que el efecto inhibitorio de la fenantrolina fue mucho mayor para las AC que para los ICH o incluso inexistente, llevó a sugerir que los radicales libres y los metales de transición jugarían un rol menor o no estarían implicados en la inducción de ICH por EN y EZ.

Inducción de daño cromosómico por los antibióticos EN y EZ en células animales. Resistencia de las células de insecto en comparación con las de mamífero.

Teniendo en cuenta que existían datos en la literatura que indicaban una mayor resistencia a las radiaciones ionizantes y no-ionizantes y al compuesto radiomimético BLM (Bianchi y López-Larraz, 1991) por parte de las células de insecto respecto de las de mamífero y a fin de determinar si lo observado para dichos mutágenos era extensible a otros agentes mutagénicos, se analizaron los posibles efectos de la EN (Bolzán *et al.*, 1998b) y la EZ sobre los cromosomas de células CHO y de mosquito (Bolzán *et al.*, 1998a y 2000). Se encontró que ambos antibióticos (EN y EZ) son capaces de inducir AC e ICH en células CHO, y que la EZ -pero no así la EN- induce AC e ICH en células de mosquito. Las células de insecto mostraron una gran resistencia a los efectos clastogénicos de la EN en comparación con las células de mamífero, confirmándose de este modo que las primeras son más resistentes a las radiaciones y agentes radiomiméticos que las segundas. En base a estudios previos, se concluyó que, posiblemente, la respuesta diferencial de los cromosomas de células de mamífero e insecto a la EN sea debida a diferencias en la estructura de la cromatina y en el contenido intracelular de sustancias antioxidantes entre ambos tipos celulares.

Efectos genotóxicos del antibiótico EZ en células humanas. Inducción de daño cromosómico en células normales y células transformadas.

A fin de profundizar en el conocimiento de los efectos genotóxicos de la EZ en células humanas, se llevaron a cabo experimentos en linfocitos de sangre periférica no estimulados (etapa G0 del ciclo celular) y estimulados (con fitohemaglutinina) utilizando cultivos de sangre total y de linfocitos aislados de 24-72 horas de duración expuestos a dosis crecientes de este antibiótico. Se encontró que la EZ tiene un marcado efecto inductor de ICH (tanto en linfocitos estimulados como no estimulados), pero no de AC en linfocitos humanos (solamente se observó inducción de AC en linfocitos estimulados derivados de cultivos de sangre total). Por lo tanto, se concluyó que el parámetro citogenético más

apropiado para determinar los efectos genotóxicos de la EZ en células humanas es la frecuencia de ICH (Bolzán y Bianchi, 2002b). Asimismo, se estudiaron los efectos de la EZ en dos líneas celulares derivadas de un carcinoma neuroendócrino de colon humano (COLO320DM y COLO320HSR) (Bolzán y Bianchi, 2003). La EZ indujo un aumento significativo en la frecuencia de AC (en relación directa con la dosis y el tiempo de tratamiento) y fragmentación y pulverización cromosómica en ambas líneas celulares, incluso en células que se encontraban en segunda o tercera división postratamiento (lo que impidió el análisis de ICH) (Bolzán y Bianchi, 2003). Los resultados demostraron que, a diferencia de los linfocitos humanos, las líneas celulares COLO320DM y HSR son altamente sensibles a la EZ. Si bien la toxicidad severa que provoca la EZ en la mayoría de los pacientes que han sido tratados con este antibiótico ha llevado a desalentar su uso como agente quimioterapéutico (véase Bolzán y Bianchi, 2002a) nuestros hallazgos permitieron sugerir que la EZ podría ser utilizada como agente antineoplásico para tumores de colon, aunque sin dudas son necesarios nuevos estudios para confirmar dicha posibilidad.

Efecto del interferón alfa recombinante 2a sobre el daño cromosómico inducido por los antibióticos BLM, EN y EZ en células de mamífero. Interacción entre el interferón alfa recombinante y los antibióticos antitumorales.

Teniendo en cuenta el uso terapéutico del interferón alfa recombinante 2a en combinación con antibióticos antitumorales como la BLM, se decidió investigar el efecto de esta citoquina sobre el daño cromosómico inducido *in vitro* por los antibióticos BLM (Bolzán *et al.*, 2002), EN (Bolzán y col., 2003) y EZ (Bolzán *et al.*, 2004) en células de mamífero (línea celular CHO). Se observó que el interferón (agregado 0,5 o 24 horas antes del tratamiento con el antibiótico correspondiente) inhibe significativamente la producción de AC por dichos antibióticos, siendo el efecto más pronunciado en el caso de la BLM y en la fase G2 del ciclo celular (período de reparación postreplicativa), donde se observó alrededor de un 80% de inhibición del daño cromosómico inducido (Bolzán *et al.*, 2002). Asimismo, el pretratamiento de células CHO con dosis

altas de interferón inhibió parcialmente la inducción de ICH por EN (Bolzán *et al.*, 2003), pero no por EZ (Bolzán *et al.*, 2004). Los resultados precedentes permitieron establecer que el interferón alfa recombinante 2a tiene un marcado efecto inhibitorio sobre la acción clastogénica de la BLM, la EN y la EZ, y que dicho efecto es probablemente debido a la estimulación de la síntesis y reparación del ADN por parte de esta citoquina.

Efectos genotóxicos de los antibióticos BLM y EN en células humanas. Aplicación de ensayos de sensibilidad a mutágenos en personal aeronáutico.

Recientemente, en el Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis se aplicaron por primera vez a nivel mundial los llamados “ensayos de sensibilidad a mutágenos” (Au, 2003) en personal aeronáutico, como una primera aproximación a estimar riesgo de cáncer en dicha población, laboralmente expuesta a las radiaciones cósmicas. El estudio se realizó en personal aeronáutico de flota internacional de nuestro país, mediante el análisis de la frecuencia de AC espontáneas e inducidas por BLM (Bolzán *et al.*, 2008) y de ICH espontáneos e inducidos por EN (Sánchez *et al.*, 2008) en linfocitos de sangre periférica. El personal aeronáutico presentó en promedio una frecuencia 3,5 veces mayor de AC (principalmente cromosomas dicéntricos) en sus linfocitos de sangre periférica que la población control estudiada (Bolzán *et al.*, 2008). Este resultado permitió sugerir que el personal aeronáutico de flota internacional de nuestro país debería ser considerado “grupo laboralmente expuesto a la radiación”. Asimismo, se encontró que el personal aeronáutico es igualmente sensible a los efectos clastogénicos de la BLM en la etapa G2 del ciclo celular, dos veces más sensible a los efectos clastogénicos de dicho antibiótico en la etapa G0 del ciclo celular y más resistente al efecto inductor de ICH por la EN que la población control (Bolzán *et al.*, 2008; Sánchez *et al.*, 2008). De este modo, de los tres ensayos utilizados, el de BLM G0 parece ser el más apropiado para determinar sensibilidad a mutágenos en personal aeronáutico de flota internacional. No obstante, se necesitan nuevos estudios para determinar si existe una relación directa entre sensibilidad a BLM en G0 y riesgo de cáncer en personal aeronáutico.

Efecto de los antibióticos BLM, EN y EZ sobre los telómeros y secuencias teloméricas intersticiales de los cromosomas de vertebrados. Estudios en células de mamíferos.

Hace aproximadamente 10 años se inició en el Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis del IMBICE una línea de trabajo que tiene por objeto analizar los efectos *in vitro* de los antibióticos BLM, EN y EZ sobre los telómeros y secuencias teloméricas intersticiales (STI) de los cromosomas de vertebrados. En primer término, se estudió la relación entre secuencias teloméricas terminales e intersticiales y AC inducidas por BLM y EN en células de hámster chino, lo que constituyó el primer trabajo publicado acerca de los efectos de dichos mutágenos sobre los telómeros y STI de vertebrados (Bolzán *et al.*, 2001b). Posteriormente, se investigó la inducción de los llamados elementos cromosómicos incompletos (es decir, que carecen de uno o ambos telómeros) por BLM (Bolzán y Bianchi, 2004a; Díaz-Flaqué *et al.*, 2006), EN (Bolzán y Bianchi, 2004b) y EZ (Bolzán y Bianchi, 2005) en células de mamífero, siendo las publicaciones resultantes las primeras a nivel mundial acerca de la inducción de elementos cromosómicos incompletos por mutágenos químicos. Más recientemente, se estudiaron los efectos de la BLM (Sánchez *et al.*, 2009) y la EN (Sánchez *et al.*, 2010) sobre las STI de células CHO, utilizando las técnicas de Hibridación In Situ Fluorescente (FISH, en inglés) y Q-FISH (FISH cuantitativo) con sonda telomérica. Los trabajos realizados permitieron concluir que las regiones cromosómicas que contienen secuencias teloméricas están preferentemente involucradas en fenómenos de ruptura y recombinación por agentes químicos radiomiméticos y que la aparición de AC incompletas (que indica falta de reparación del daño cromosómico inducido) es un fenómeno muy frecuente en células tratadas con antibióticos antitumorales (sean o no radiomiméticos). Asimismo, se encontró que los compuestos radiomiméticos inducen amplificación y translocación de secuencias teloméricas, aunque se desconocen los mecanismos involucrados y también rupturas a nivel de las regiones cromosómicas centroméricas ricas en STI, aunque dichas regiones no son el blanco preferencial de su acción clastogénica.

Los trabajos realizados en esta área de investi-

gación permitieron la publicación de un artículo de revisión y un capítulo de libro sobre los diferentes tipos de aberraciones cromosómicas que involucran a los telómeros y STI y su inducción por mutágenos físicos y químicos, incluyendo esquemas completamente originales de cada una de las aberraciones (Bolzán y Bianchi, 2006; Bolzán, 2009).

PERSPECTIVAS FUTURAS

Las investigaciones futuras estarán orientadas principalmente a profundizar en el conocimiento de los efectos genotóxicos de los mutágenos químicos sobre los telómeros y STI de vertebrados. Para ello, se prevé investigar los efectos a corto y largo plazo de la BLM, la EN y la EZ sobre los telómeros y STI de células animales y humanas analizando el daño cromosómico inducido y su relación con la distribución de las secuencias teloméricas, la actividad de la enzima telomerasa y la expresión de genes involucrados en el mantenimiento de los telómeros y la regulación de la actividad telomerasica.

Abreviaturas

BLM, bleomicina; EN, estreptonigrina; EZ, estreptozotocina; AC, aberraciones cromosómicas; ICH, intercambios de cromátidas hermanas; STI, secuencias teloméricas intersticiales.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos muy especialmente al Prof. César Horgan, al Dr. Miguel Reigosa, a la Lic. Verónica Labarta, al Qco. Daniel Castrogiovanni y a la Lic. Julieta Parisi por la asistencia profesional y técnica y al Dr. Néstor Bianchi por sus valiosos consejos durante todos estos años de trabajo. Las investigaciones mencionadas en este artículo fueron financiadas con subsidios de CONICET, CICPBA, ANP-CyT y Fundación Antorchas.

REFERENCIAS

Au, W.W. (2003) Mutagen sensitivity assays in population studies. *Mutat. Res.* 544:273-277.

Bianchi, N.O., López-Larrazá, D.M. (1991) DNA damage and repair induced by bleomycin in mammalian and insect cells. *Environ. Mol. Mutagen.* 17:63-68.

Bolzán, A.D. (2009) Cytogenetic evaluation of telomere dysfunction: Chromosomal aberrations involving telomeres and interstitial telomeric sequences. In: "Telomeres: Function, Shortening and Lengthening" (Leonardo Mancini, Editor), Nova Science Publishers Inc., New York, USA, pp. 133-185.

Bolzán, A.D., Bianchi, N.O., Bianchi, M.S. (1998a) Effects of antioxidants on streptozotocin-induced clastogenesis in mammalian and insect cells. *Mutat. Res.* 418:45-52.

Bolzán, A.D., Bianchi, N.O., Bianchi, M.S. (1998b) Chromosomal response of insect and mammalian cells to streptonigrin: A comparative study. *Environ. Mol. Mutagen.* 32:331-335.

Bolzán, A.D., González, M.C., Bianchi, M.S. (2000) The effect of 1,10-Phenanthroline on the chromosome damage and sister-chromatid exchanges induced by streptozotocin in mammalian and insect cells. *Mutat. Res.* 447:221-226.

Bolzán, A.D., Bianchi, M.S. (2001) Genotoxicity of streptonigrin: A review. *Mutat. Res.* 488:25-37.

Bolzán, A.D., Bianchi, M.S., Correa, M.V. (2001a) Modulation of streptonigrin's clastogenic effects in CHO cells by the metal-chelating agent 1,10-Phenanthroline. *Environ. Mol. Mutagen.* 38:306-310.

Bolzán, A.D., Páez, G.L., Bianchi, M.S. (2001b) FISH analysis of telomeric repeat sequences and their involvement in chromosomal aberrations induced by radiomimetic compounds in hamster cells. *Mutat. Res.* 479:187-196.

Bolzán, A.D., Bianchi, M.S. (2002a) Genotoxicity of streptozotocin. *Mutat. Res.* 512:121-134.

Bolzán, A.D., Bianchi, M.S. (2002b) Chromosomal response of human lymphocytes to streptozotocin. *Mutat. Res.* 503:63-68.

Bolzán, A.D., Correa, M.V., Bianchi, M.S. (2002) Effect of recombinant interferon alpha on bleomycin-induced chromosome damage in hamster cells. *Mutat. Res.* 505:43-50.

Bolzán, A.D., Lacunza, E., Bianchi, M.S. (2003) Effect of recombinant interferon alpha on streptonigrin-induced chromosome aberrations and sister-chromatid exchanges in hamster cells. *Mutat. Res.* 522:127-134.

- Bolzán, A.D., Bianchi, M.S. (2003) Clastogenic effects of streptozotocin on human colon cancer cell lines with gene amplification. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 22:281-286.
- Bolzán, A.D., Bianchi, M.S. (2004a) Detection of incomplete chromosome elements and interstitial fragments induced by bleomycin in hamster cells using a telomeric PNA probe. *Mutat. Res.* 554:1-8.
- Bolzán, A.D., Bianchi, M.S. (2004b) Analysis of streptonigrin-induced incomplete chromosome elements and interstitial fragments in Chinese hamster cells using a telomeric PNA probe. *Environ. Mol. Mutagen.* 44:277-282.
- Bolzán, A.D., Lacunza, E., Bianchi, M.S. (2004) Effect of recombinant interferon alpha on streptozotocin-induced chromosome aberrations and sister-chromatid exchanges in hamster cells. *Toxicol. In Vitro* 18:901-905.
- Bolzán, A.D., Bianchi, M.S. (2005) Analysis of streptozotocin-induced incomplete chromosome elements and excess acentric fragments in Chinese hamster cells using a telomeric PNA probe. *Mutat. Res.* 570:237-244.
- Bolzán, A.D., Bianchi, M.S. (2006) Telomeres, interstitial telomeric repeat sequences, and chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 612:189-214.
- Bolzán, A.D., Bianchi, M.S., Giménez, E.M., Díaz Flaqué, M.C., Ciancio, V.R. (2008) Analysis of spontaneous and bleomycin-induced chromosome damage in peripheral lymphocytes of long-haul aircrew members from Argentina. *Mutat. Res.* 639:64-79.
- Díaz Flaqué, M.C., Bianchi, M.S., Bolzán, A.D. (2006) A comparative analysis of bleomycin-induced incomplete chromosome elements in two mammalian cell lines using a telomeric PNA probe. *Environ. Mol. Mutagen.* 47:674-681.
- Povirk, L.F., Austin, M.J. (1991) Genotoxicity of bleomycin. *Mutat. Res.* 257:127-143.
- Sánchez, J., Bianchi, M.S., Ciancio, V.R., Bolzán, A.D. (2008) Analysis of spontaneous and streptonigrin-induced sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of aircrew members of international flights. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 27:277-285.
- Sánchez, J., Bianchi, M.S., Bolzán, A.D. (2009) Effect of bleomycin on interstitial telomeric sequences of immortalized Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* 669:139-146.
- Sánchez, J., Bianchi, M.S., Bolzán, A.D. (2010) Relationship between heterochromatic interstitial telomeric sequences and chromosome damage induced by the radiomimetic compound streptonigrin in Chinese hamster ovary cells. *Mutat. Res.* 684:90-97.
- Testoni, M.I., Bolzán, A.D., Bianchi, M.S., Bianchi, N.O. (1997) Effects of antioxidants on streptonigrin-induced DNA damage and clastogenesis in CHO cells. *Mutat. Res.* 373:201-206.

- Received **9/07/2010**

- Accepted **24/05/2011**