EFECTOS DE LA RADIACION ULTRA-VIOLETA A Y B SOBRE CROMOSOMAS HUMANOS

Lorena Tobella*, Sergio Cabrera ** y Rodrigo Moreno**

* *Servicio de Genética, Hospital Clínico de la Universidad de Chile*

** *Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina Universidad de Chile*

En la última década, se ha producido una disminución progresiva y constante de la capa de ozono mundial, debido al adelgazamiento de ésta durante la primavera sobre la Antártica [1]. Esto, ha traído como consecuencia un aumento de la radiación ultravioleta B que llega a la superficie terrestre. Se estima que un 1% de disminución de ozono produce un aumento de un 2% de radiación UV-B biológicamente efectiva [2].

La radiación UV produce mutaciones en el DNA, éste presenta su mayor absorción en el intervalo de radiación de 254-280 nm, que corresponde a UV-C, sin embargo, estas longitudes de onda no tienen importancia biológica ya que son absorbidas por las capas altas de la atmósfera [3]. En cambio, longitudes de ondas entre 290-320nm (UV-B), penetran la atmósfera al disminuir las concentraciones de ozono[2].

La radiación UV-B tiene una acción directa sobre el DNA, resultante de la absorción de fotones, induciendo la formación de enlaces covalentes entre bases pirimídicas contíguas de la misma hebra, especialmente timina-timina [4]. Es el primer factor etiológico de los tumores basales y escamosos de piel [5], estimándose que una disminución de un 10% de ozono estaría asociado a un 26% de incremento de casos [6].

Se han observado efectos a nivel ocular, pterigium , fotoqueratitis, melanoma intraocular y catarata cortical y subcapsular posterior [7], nuevos hallazgos han encontrado asociaciones entre UV-B y presbiopía, deformaciones de la cápsula anterior del lente y todas las formas de cataratas. Una disminución de ozono de un 10% provocaría un aumento de 1,6 a 1,75 millones de casos de cataratas en el mundo [6].

Además, la radiación UV-B provoca inmunosupresión, por lo que un aumento de esta radiación produciría un incremento de las enfermedades infecciosas o de su severidad [6].

Por otro lado, los flujos de radiación ultravioleta A, que llegan a la superficie terrestre, se han mantenido inalterables ya que estas longitudes de onda (320-400nm) casi no son absorbidas por el ozono [5]. La radiación ultravioleta A, también produce daño al DNA a través de un mecanismo de acción indirecto, con la participación de intermediarios endógenos y especies de oxígeno reactivas, produce muy pocos dímeros y provoca con mayor frecuencia rupturas en la cadena de DNA, el significado de estas lesiones no se conoce exactamente[4,8].

Desde 1992 hasta la fecha, se han realizado mediciones de radiación UV-B y UB-A en Chile, especialmente en Santiago, donde la cantidad de radiación UV-B que se recibe, es menor que la esperada a igual latitud, debido a la polución del aire[9].

Para cuantificar el efecto biológico de los flujos de radiación UV-A y B que se están midiendo en Chile, se irradiaron linfocitos humanos con dos tipos de tratamientos: UV-A+ visible (tratamiento A) y UV-A+ UV-B+ visible (tratamiento B) [10]. Las irradiaciones utilizadas en estos tratamientos, son comparables a las cantidades de radiación que fueron medidas en un día de verano en Santiago, durante cortos períodos de tiempo (1, 2, 3 y 5 minutos) [10].

El análisis citogenético de las aberraciones cromosómicas en los cultivos de células somáticas, es uno de los métodos usados para la evaluación de la mutagénesis inducida en el hombre. Utiliza la tasa de aberraciones cromosómicas

encontradas en los cultivos de linfocitos humanos, como indicadora del daño genético cuando ha existido una esposición **in vivo** o **in vitro** a un agente mutagénico [11].

En el tratamiento **A** y en el tratamiento **B** se observó un número significativamente mayor de alteraciones cromosómicas que en los controles sin irradiar (Tabla 1). El número de alteraciones aumentó a mayor tiempo de irradiación de 1 a 5 minutos (Fig. 1). Los valores promedios de alteraciones cromosómicas a iguales tiempos de irradiación entre los tratamientos **A** y **B** no fueron estadísticamente significativos. La mayoría de las alteraciones cromosómicas encontradas fueron fracturas simples en una cromátide, sin embargo, también se encontraron otras alteraciones como: fracturas dobles de cromátide, traslocaciones, inversiones, cromosomas dicéntricos, fragmentos cromosómicos, reordenamientos, dobles minutas y pulverizaciones (Fig. 2). Por otra parte, los cromosomas de mayor tamaño son los que presentaron el mayor número de alteraciones.

Estos tratamientos se realizaron durante la fase estacionaria del ciclo celular, en esta fase la sensibilidad de las células a la radiación UV, es menor que en la fase exponencial del crecimiento. [12].

Además, los mecanismos de reparación del DNA no fueron manipulados, por lo que las alteraciones cuantificadas, son las que no pudieron ser reparadas y permanecen después de que estos mecanismos actuaron.

La mayoría de los reordenamientos cromosómicos surgen como consecuencia de lesiones en el DNA, seguido de errores en la unión durante la reparación o replicación del daño al DNA (13). Muchos tipos de lesiones en esta molécula pueden producir alteraciones cromosómicas incluyendo rompimientos simples y dobles de cadena de DNA, daño en las bases como la formación de dímeros, alquilaciones, entrecruzamientos, sitios apurínicos o apirimidínicos entre otras. [13].

En la Fig. 1, se observa una curva bimodal en la producción de alteraciones cromosómicas en el tratamiento **B**, que tiene ambos tipos de radiación UV-A y UV-B (la primera alza a los 2 minutos y la segunda a los 5 minutos de irradiación). En ambos tratamientos la cantidad de radiación UV-A a los tres minutos del tratamiento **A** y a los 2 minutos del tratamiento **B** son similares (Fig. 1 y 3), esto coincide con el primer aumento de alteraciones en este último tratamiento, posteriormente hay una caída en la inducción de alteraciones y cantidades semejantes de radiación UV-A (5 minutos tratamiento **A** y 3 minutos tratamiento **B**). (Fig. 1 y 3).

Los mecanismos diferentes para la producción del daño en el DNA del UV-B (daño directo) y del UV-A (daño indirecto), explicarían la curva bimodal observada en el tratamiento **B**, el alza a los 2 minutos, probablemente, correspondería a las alteraciones producidas por la radiación UV-A y el alza posterior a los 5 minutos, a los producidos por el UV-B (trat. **B**) (Fig. 1).

Hay evidencias que las rupturas simples de cadena de DNA en células humanas, presentan una curva de naturaleza bimodal, con un alza de los valores en el UV-A y otra alza en el UV-B, esto reafirma la hipótesis que hay más de un mecanismo para la inducción de estas lesiones, dependiendo de la longitud de onda [4].

En cuanto a los tiempos de irradiación y el promedio de los porcentajes de alteraciones, presentaron una correlación de tipo potencial con un $r=0,947$ con un $p<0.05$ para las muestras con tratamiento **A** y un $r=0,97$ para las muestras con tratamiento **B** con un $p<0,01$ (Fig. 4). El achurado de la Fig. 4 representa la diferencia teórica de alteraciones cromosómicas entre los tratamientos **A** y **B**, estas diferencias serían debidas a la radiación UV-B, y a un segmento de la radiación UV-A de las ondas más cortas (Fig. 3).

Las longitudes de onda de 290 nm. son 1.000 a 10.000 veces más eficientes en producir daño que las longitudes de onda mayores de 330 nm (5). Sin embargo, el efecto de la radiación UV-A ha cobrado gran importancia realizándose un espectro de acción para eritema y carcinogénesis con una considerable contribución de UV-A, la disminución de ozono ha aumentado la radiación UV-B efectiva, en tanto la radiación UV-A efectiva ha permanecido sin variación en el tiempo [14].

El daño al DNA producto de longitudes de onda larga (320 nm) no se conoce exactamente y su significado biológico no está claro [15].

La acumulación de lesiones y la imposibilidad de los mecanismos de reparación para eliminar el daño ocasionado pudiera desembocar en muerte celular, los rompimientos dobles de cadena pueden ser una lesión crítica que pudiera ser letal, estos rompimientos se han visto en el proceso de reparación de dímeros de pirimidinas, esta reparación puede jugar un rol en la letalidad y efecto mutagénico de la radiación UV-B, pero no pueden ser involucrados con

los efectos de la radiación UV-A, la cual produce muy pocos de estos dímeros [15].

Otro parámetro evaluado fue el índice mitótico, que en los tratamientos presenta valores menores respecto de los controles. Estos valores disminuyeron a mayor tiempo de exposición, con un leve aumento en el valor de los tratamientos **A** y **B** a los 5 minutos de irradiación, respecto del tratamiento de 3 minutos de irradiación (Fig. 5). Las diferencias respecto de los controles sólo fueron significativas en el tratamiento **A** de 2 minutos $p<0,03$ y 3 minutos $p<0,02$ (Fig. 5).

La letalidad celular, la acumulación de lesiones y el alargamiento del período G2 del ciclo celular de la célula irradiada, debido a la puesta en marcha de los mecanismos de reparación, podrían explicar el menor índice mitótico encontrado en las muestras irradiadas con respecto a los controles (sin irradiar) (Fig. 5).

Un incremento mayor del flujo de radiación UV-B como consecuencia de la disminución de ozono, probablemente aumentaría la tasa de mutaciones en los organismos vivos, muchas de estas lesiones podrán ser reparadas; sin embargo otras se acumularán, causando daño a los organismos que puede llevarlos a la muerte.

Un mayor número de estudios sobre los efectos de la radiación UV-B proveniente del sol, podría dar una visión global del potencial daño inducido por esta radiación, lo que permitiría tomar las medidas de prevención y protección sobre todo en la población humana.

SUMMARY

The preliminary results of the clinical experience concerning the ultraviolet radiation effect on the human cromosomes. Two groups of linphocytes with A and B ultraviolet were irradiated, comfaring the cromosomic alteration, DNA damage and mitori in both groups.

REFERENCIAS

1.- Madronich, B. 1992. Implications of recent total atmospheric ozone measurements for biologically active ultraviolet radiation reaching the earth's surface. Gheophys Re. Lett. 19, 37-40

2.- Roy, C., Gies, P. & Elliot, G. 1990. Ozone depletion. Nature. 347. 235-236.

3.- Golan, T.D., Foltyn, V. & Rouff, A. 1991. Increased susceptibility to in vitro ultraviolet B radiation in fibroblasts and lymphocites cultured from sistemic lupus erythematosus patients. Clin. Inmunol. Immunopathot. 58, 289-304.

4.- Peak, M. J., Peak, J. G. & Carnes, B.A. 1987. Induction of direct and indirect single-strand breaks in human cell DNA by far-and near ultraviolet radiations: action spectrum and mechanisms. Photochem. Photobiol. 45 (3), 381-387.

5.- Urbach, F. 1989. Potencial effects of altered solar ultraviolet radiation on human skin cancer. Photochem. Photobiol. 50 (4), 507-513.

6.- UNEP. 1991. International Committee on effects of Ozone Depletion, UNEP Report on the enviromental effects of ozone depletion, UNEP, New York.

7.- Taylor, H. 1989. The biological effects of UV-B on the eye. Photochem. Photobiol. 50 (4), 489-492.

8.- Peak, M. J., Ito, A., Foote, C., Peak, J. 1988. Photosensitized inactivation of DNA by monochromatic 334-nm radiation in the presence of 2-thiouracil: genetic activity and backbone breaks. Photochem. Photobiol. 47 (6), 809-813.

9.- Cabrera, B., Bozzo, B. & Fuenzalida, H. 1995. Variations in UV radiation in Chile. Photochem. Photobiol. 28 (2): 137-142.

10.- Tobella L., Cabrera, B. & Moreno, R. 1994. Efectos de la radiación ultravioleta A y B sobre linfocitos humanos. Rev. Méd. Chile. 122: 861-872.

11.- Tratado de Medicina Interna. Medicine. 1991. Genética. Mutagénesis y Carcinogénesis Ambiental. Introducción a la Toxicología Genética. J.M. García Sagredo. pág. 3944-3952.

12.- Griego, V. M., Webb, R. B. & Matsushita, T. 1980. Dependence on stage of growth of mammalian cell sensitivity to near UV irradiation. Photochem. Photobiol. 33, 211-214.

13.- Zwamenburg, T. B. B., Zeelanad, A. A. & Nataraja, A. T. 1985. Influence of incorporated bromodeoxyuridine on the induction of chromosomal alterations by ionizing radiation and long wave UV in CHO cells. Mutat. Res. 150, 283-292.

14.- Kelfkens, G., Gruijl, F. R. & Van Der Leun, J. C. 1990. Ozono depletion and increase in annual carcinogenic ultraviolet dose. Photochem. Photobiol. 52, (4) 819-823.

15.- Peak, J. G. & Peak, M. J. 1990. Ultraviolet light induces double-strand breaks in DNA of cultured human P3 cells as measured by neutral filter elution. Photochem. Photobiol. 52 (2); 387-393.

TABLA 1
VALORES PROMEDIOS DE LOS PORCENTAJES DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS DE IRRADIACION
(TRATAMIENTOS A Y B)

Min. irradiación	Trat. A±o	Test T	Trat. B ± o	Test T
0	0.80 ± 0.954		0.72 ± 0.936	
1	2.61 ± 1.326	p<0.0035	3.06 ± 1.772	p<0.0030
2	2.43 ± 1.778	p<0.0310	3.8 ± 0.614	p<0.0003
3	4.53 ± 3.174	p<0.0034	3.3 ± 2.614	p<0.0120
5	3.53 ± 2.101	p<0.0025	5.51 ± 3.142	p<0.0005

o: desviación estandar

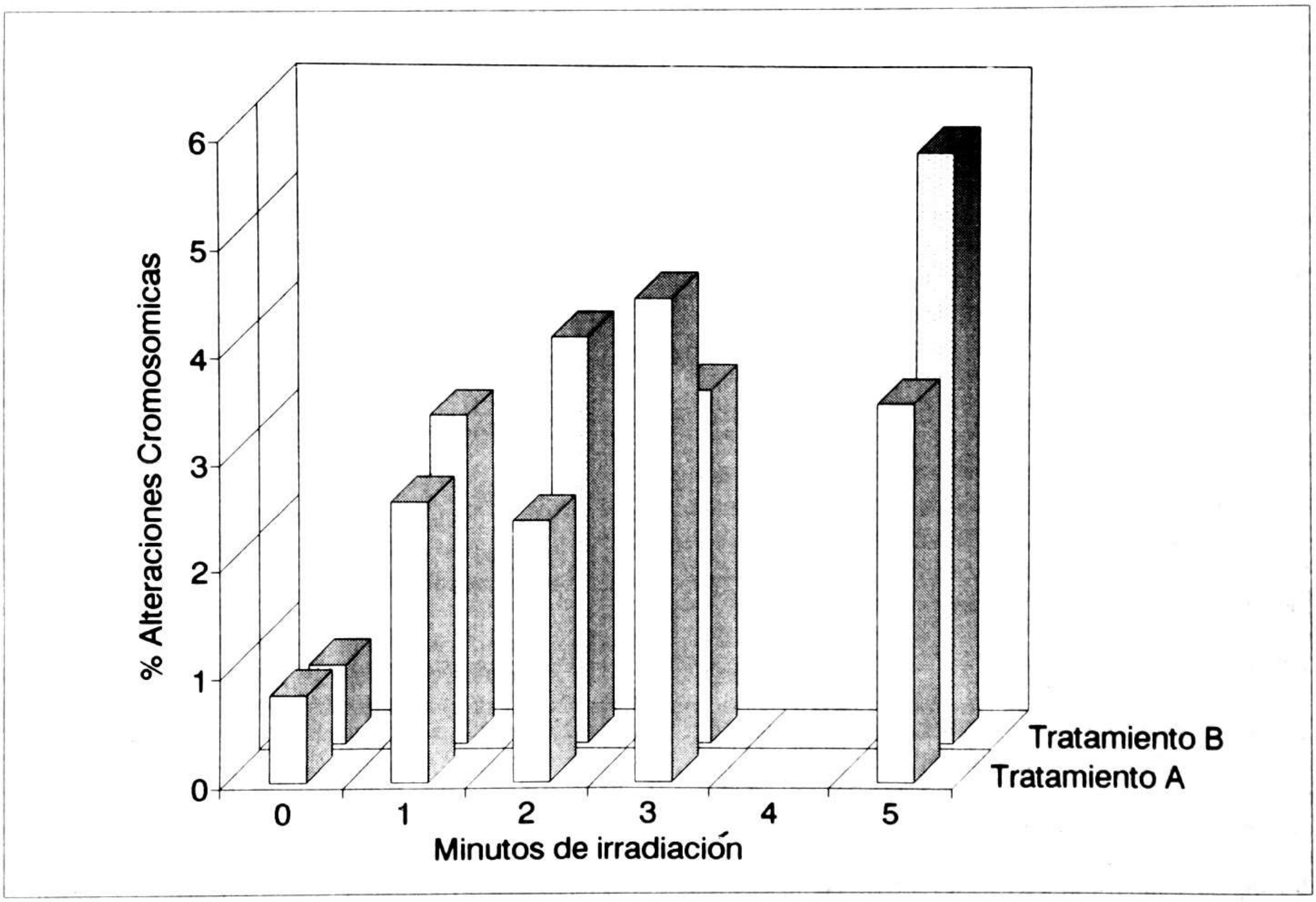

Fig. 1.- Valores promedios de los porcentajes de alteraciones a diferentes tiempos de irradiación y su control sin irradiar. (Tobella et al).

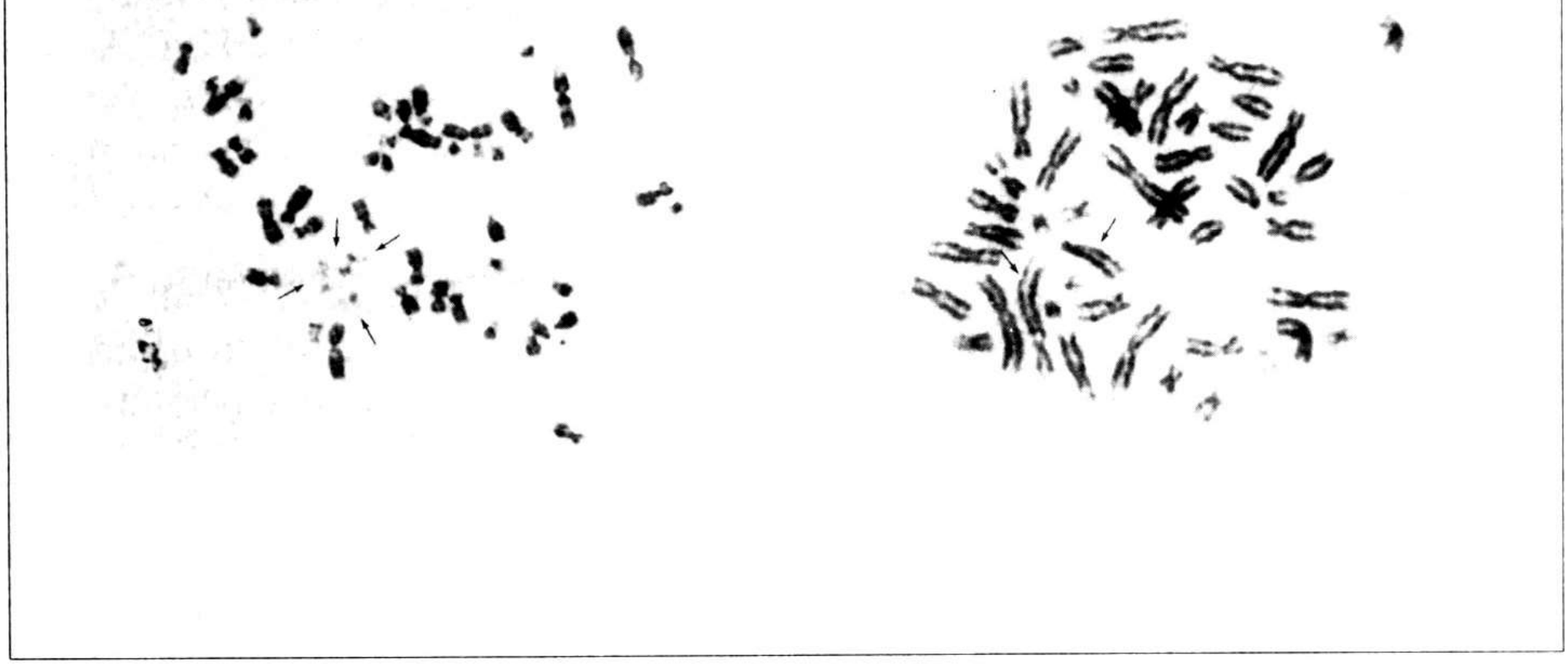

Fig. 2.- Ejemplos de alteraciones observadas con el tratamiento **A** y **B**.
a) Pulverización cromosómica con 5 min. de irradiación tratamiento **A** (UV-A).
b) Traslocación entre cromosoma 1 y 7 con 5 min. de irradiación tratamiento **B** (UV-A y UV-B)(Tobella et al).

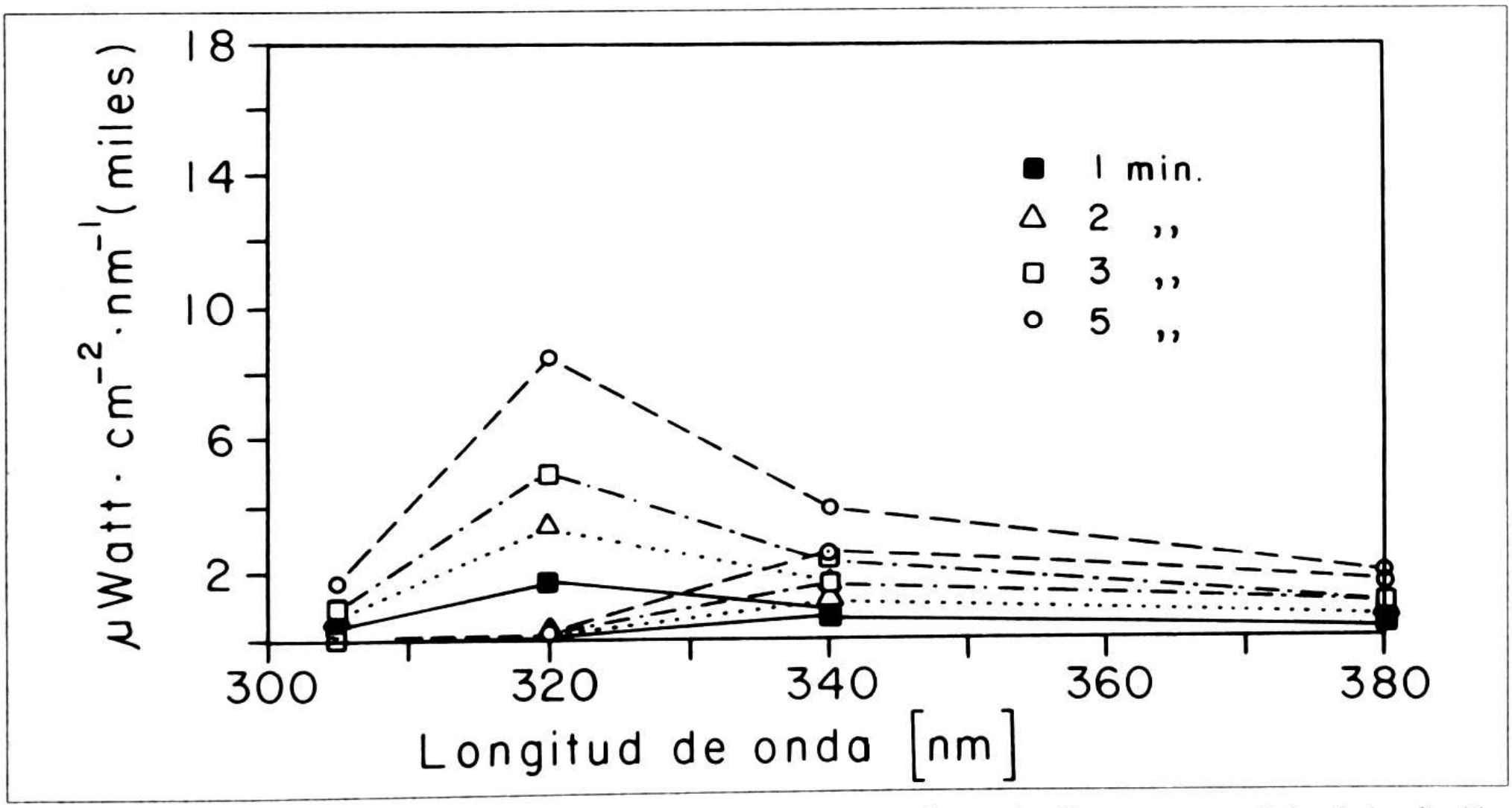

Fig. 3.- Comparación de los flujos de radiación utilizados en los tratamientos **A** y **B**, en cuatro períodos de irradiación. (Tobella et al).

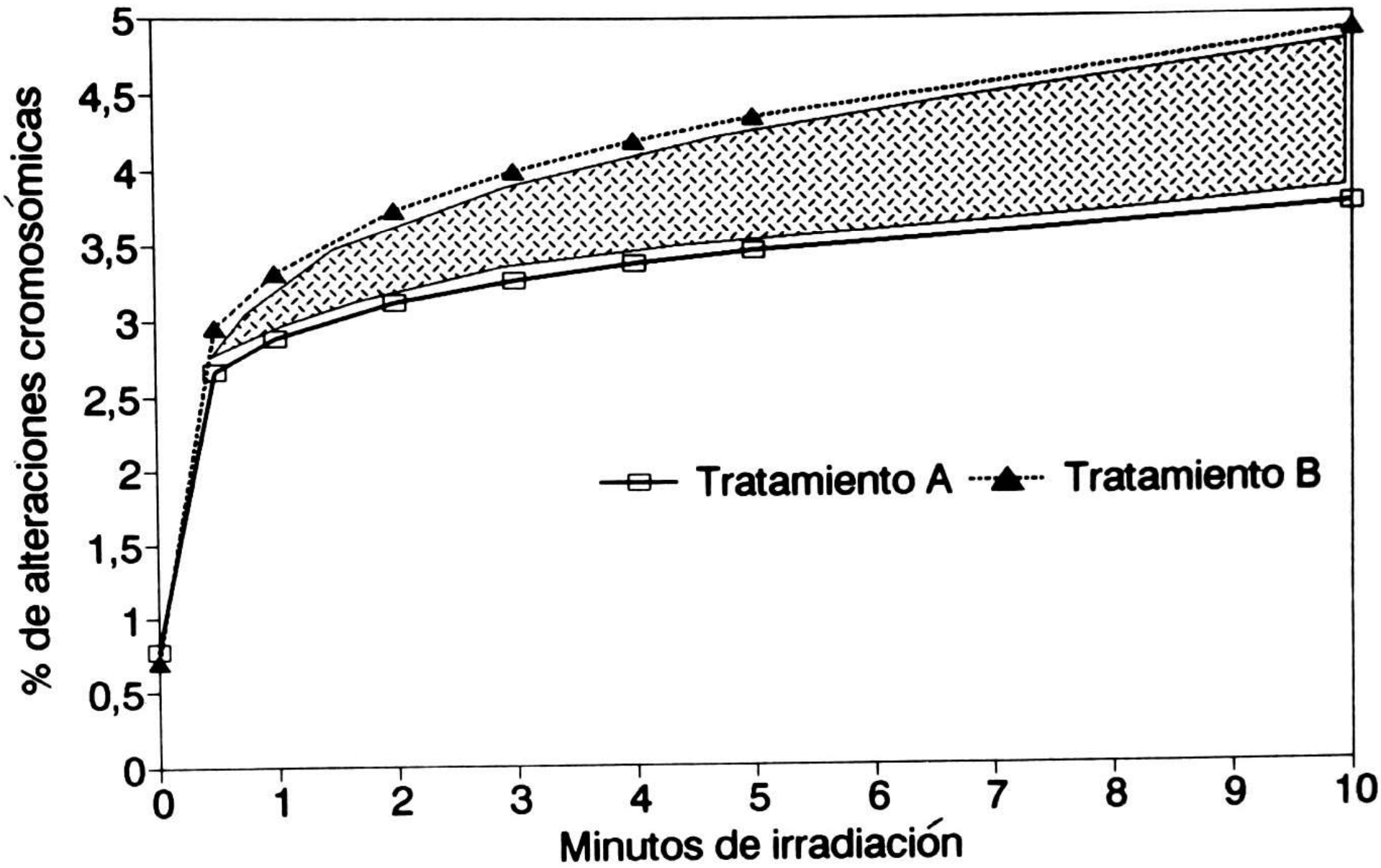

Fig. 4.- Comparación de las funciones que representan a los valores promedios de las alteraciones en los diferentes tiempos de irradiación y su control sin irradiar. El achurado muestra la diferencia entre ambos tratamientos. (Tobella et al).

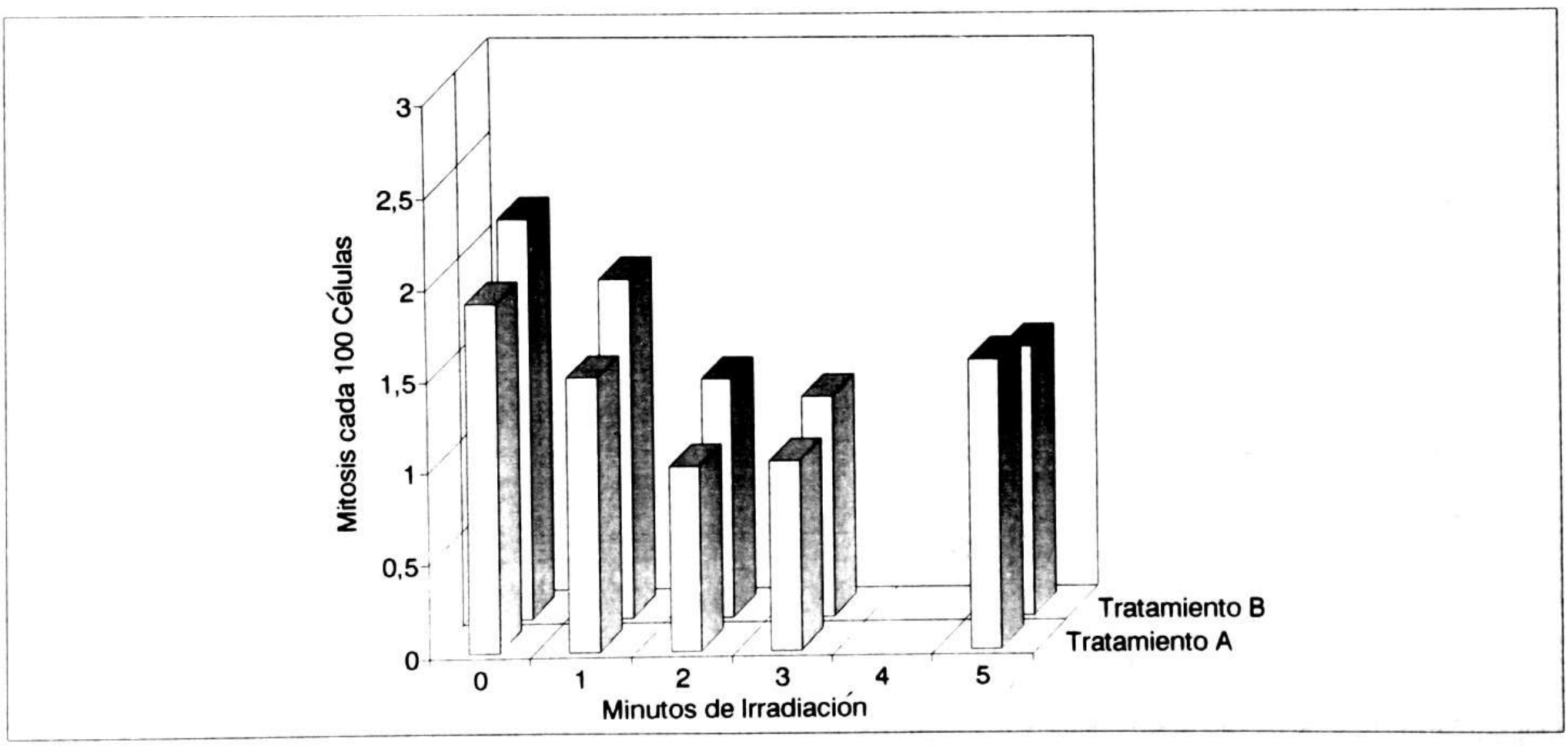

Fig. 5.- Comparación de los valores promedios del índice mitótico en ambos tratamientos. (Tobella et al).