

# Progresos y retos de la Toxicología Genética

Castillo Ordoñez, W.O. \*; Velasco Reyes, M.A.

Facultad de Ciencias Naturales- Exactas y de la Educación, Departamento de Biología, Universidad del Cauca, Popayán- Colombia, 190003

**Resumen:** Esta revisión resume los principales avances de la citogenética y proporciona una perspectiva sobre el futuro de la toxicología genética, desde el pasado, presente y futuro, tanto desde el punto de vista genético como epigenético. Los principios de la citogenética clásica han evolucionado con el tiempo, interactuando con enfoques de toxicología para dar lugar a la toxicología genética o mutagénesis ambiental. Actualmente, están surgiendo estudios toxicogenómicos basados en estudios de toxicología genética estándar, y uno de los principales objetivos de la toxicogenómica es detectar relaciones entre cambios en la expresión génica global y criterios de valoración toxicológicos, con el fin de comprender el papel de las interacciones gen-ambiente en la enfermedad. Para alcanzar este objetivo, la toxicogenómica combina la toxicología, la genética, tecnologías de perfiles moleculares de alto rendimiento como la transcriptómica, proteómica, metabolómica y la bioinformática. En este campo, muchas limitaciones restringen el papel de los nuevos hallazgos y enfoques. Por ejemplo, el costo de las nuevas tecnologías; sin embargo, su aplicación contribuirá a una mejor comprensión de las interacciones gen-ambiente y de esta manera, establecer políticas orientadas a prevenir riesgos para la salud, para que se viva una vida más saludable en un ambiente más favorable.

**Palabras claves:** Citogenética; mutagenesis; toxicogenómica; epigenética, bioinformática.

## Abstract: Progress and challenges of Genetic Toxicology

This review summarizes the main advances of cytogenetic and provides a perspective on the future of genetic toxicology, reviewing from past, present, and future, both genetics and epigenetic point of view. The principles of classical cytogenetics have evolved over time, interacting with toxicology approaches to give rise to genetic toxicology or environmental mutagenesis. Currently, toxicogenomic studies are emerging based on standard genetic toxicology studies, and one major goal of toxicogenomic is to detect relationships between changes in global gene expression and toxicological endpoints, in order to understand the role of gene-environment interactions in disease. To reach this goal, toxicogenomics combines toxicology, genetic, with genomics or other high throughput molecular profiling technologies such as transcriptomics, proteomics, metabolomics, and bioinformatics. In this field, many limitations are restricting the role of the novel findings and approaches. For example, the cost of new technologies; however, its application will contribute to a better understanding of gene-environment interactions and in this way, establish policies aimed at preventing health risks, so that a healthier life is lived in a friendlier environment.

**Keywords:** Cytogenetic; mutagenesis; toxicogenomic; epigenetics; bioinformatics.

## Introduction. Avances de la Toxicología Genética

Con el redescubrimiento de las leyes de Mendel a inicios del siglo XX, se inicia a nivel mundial, el campo de la genética; la cual, se establece como una de las aventuras intelectuales más emocionantes y prodigiosas de la mente humana. En el siglo XX, la biología con ayuda de la física puso en evidencia que la información genética se almacena en el ADN, una molécula de naturaleza bioquímica, y altamente estable. Paralelamente, se dieron grandes avances en el conocimiento de la morfología y función cromosómica. Los mecanismos de transmisión de la herencia tanto de los caracteres continuos como discontinuos eran desconocidos hasta antes que las

leyes de Mendel fueron explicadas entorno del siglo XX, considerando el comportamiento de los cromosomas en las células germinales (Sutton, 1903).

La utilización de tinciones previamente usadas por patólogos para identificar bacterias; también permitió identificar los cromosomas. La prueba de la teoría cromosómica de la herencia fue un evento decisivo entorno de la biología, que convirtió a los citólogos en citogenetistas. Investigadores como Morgan, Bridges, Sturvant y Muller construyeron los primeros mapas de ligamento genético a partir de estudios de recombinación hechos en cruces de *Drosophila melanogaster* y en preparados citológicos de sus cromosomas politénicos de la glándula salival (Bridges, 1916). Sin embargo, no se puede desconocer que fue el botánico Karl Wilhelm von Nägeli, quien en 1840 describió por primera vez estructuras filiformes en núcleos de células vegetales a los que llamo "citoblastos transitorios" ahora conocidos como cromosomas.

A mediados de los años 50, Joe Hin Tjio y Albert Levan establecen el número y la estructura de los cromosomas humanos (Tjio y Levan, 1956). El primer descubrimiento de una aberración cromosómica humana fue realizado por Martha Gautier y colegas en 1958. Ellos encontraron un cromosoma extra en cultivos de fibroblastos de niños con síndrome de Down. Al mismo tiempo, en Gran Bretaña se habían encontrado anomalías en los cromosomas sexuales en los síndromes de Turner y Klinefelter, aunque estos se notificarían varios meses después (Ferguson-Smith, 2015). En 1966 se reportó que el cultivo celular de fluido amniótico podía ser usado para determinar el contenido cromosómico del feto (Steele y Breg Jr, 1966). En conjunto, estos hallazgos se traducirían en un avance importante de la genética, dando surgimiento a la citogenética y su rol en la medicina.

## Citogenética

La citogenética configura entonces, el estudio de la estructura y propiedad de los cromosomas, su comportamiento en el trascurso de la división celular somática durante el crecimiento y desarrollo (mitosis), y la división de células germinales durante la reproducción (meiosis); así como, su influencia sobre el fenotipo. Además, la citogenética también incluye el estudio de los factores que causan cambios tanto en el número como en la estructura de los cromosomas (Natarajan, 1993; Villela et al., 2021).

El análisis cromosómico llegó a ser más fácil después de los años 60, cuando se introdujo el cultivo de linfocitos estimulados por fitohemaglutinina, las preparaciones histológicas secadas al aire reemplazaron a las técnicas de squash permitiendo la observación de cromosomas con mayor resolución (Figura 1). Inmediatamente la tecnología se tornó simple para todos los laboratorios, y la era de la citogenética había nacido (Moorhead, Nowell, Mellman, Battips, y Hungerford, 1960). Los inicios de la citogenética humana por Harper (Barber, 2007) proporcionó interesantes referencias sobre la citogenética temprana en Rusia, donde el tratamiento hipotónico de las células mitóticas se había introducido desde 1934 (Zhivago, Morosov, y Ivanickaya, 1934). Durante muchos años, parte del retraso en la citogenética se debió entonces a los fallos de comunicación entre Oriente y Occidente y a la purga de genetistas por parte de Stalin. Sin embargo, la combinación de estrategias metodológicas asociadas al cultivo de linfocitos, uso de fitohemaglutinina, colchicina y tratamiento hipotónico llevaron a la corrección del número cromosómico humano; al mismo tiempo, que se generalizó la citogenética diagnóstica en el descubrimiento de diversos síndromes cromosómicos.

\*e-mail: wocastillo@unicauca.edu.co



**Figura 1.** Cariotipo humano. Después de los años 60 las técnicas citogenéticas permitieron la observación de cromosomas con mayor resolución. Cortesía del Laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética, Universidad del Cauca.

La introducción del bandeo cromosómico a inicios de los 70 ha llegado a ser una de las más importantes innovaciones en citogenética. El descubrimiento fue realizado inicialmente en *Vicia faba* (modelos ampliamente usados para la evaluación de agentes genotóxicos y mutagénicos) por Casperson y Zech quienes usaron Quinacrina, un agente intercalante del ADN que produce bandas fluorescentes y brillantes (Caspersson et al., 1969). Su aplicación, permitió reconocer las aberraciones cromosómicas en leucemias y linfomas. Entretanto, Pardue y Gall habían demostrado que el ADN satélite marcado con isótopos podría hibridarse *in situ* con los centrómeros de cromosomas desnaturalizados, observándose que los sitios de hibridación podía teñirse selectivamente con Giemsa produciendo lo que ahora se conoce como bandas-C (Sumner, Evans, y Buckland, 1971). Modificaciones en los procesos de desnaturalización con alkali, calor o enzimas proteolíticas produjeron bandas alternas claras y oscuras (bandas-G); por su parte, las bandas-R constituyen la representación del patrón reverso de las bandas G. Así, las bandas-G oscuras, son las bandas claras en la tinción con R (Dutrillaux y Lejeune, 1971). El bandeo-G con tripsina identifica cada cromosoma humano de forma inequívoca y se ha adoptado ampliamente en la citogenética de diagnóstico para detectar aberraciones previamente invisibles. Por su parte, las bandas AG-NOR permiten identificar las regiones organizadoras nucleares, visibles en los cromosomas acrocéntricos (pares 13, 14, 15, 21 y 22) (Yunis, 1976). Adicionalmente, un procedimiento importante desde hace años en la citogenética es la técnica de la autorradiografía, la cual pone de manifiesto el intercambio entre los segmentos de las cromátidas hermanas (del inglés, Sister Chromatid Interchange-SCI) mediante la incorporación de 5-bromodesoxiuridina (BrdU) que se incorpora sustituyendo a la timidina. Este intercambio en condiciones normales es relativamente constante (de 6 a 9); sin embargo, algunos mutágenos y carcinógenos incrementan su frecuencia (Bolognesi et al., 1997).

Como se mencionó antes, Pardue y Gall fueron pioneros en el uso de la hibridación *in situ*, esta técnica facilitó a través de vectores producir suficiente cantidad de sondas que permitieron el mapeamiento de genes en los cromosomas. Así, en 1981 los genes para las globinas humanas y la insulina fueron asignados a los

cromosomas 16p y 11p respectivamente y la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) emergió como el método estándar para el mapeo de genes en los cromosomas ((Malcolm, Barton, Murphy y Ferguson-Smith, 1981). Posteriormente, otras técnicas como la hibridación genómica comparativa (HGC) que combina FISH con técnicas de citogenética clásica permitían visualizar la amplificación y deleciones del ADN, haciendo posible identificar trastornos cromosómicos en tejido tumoral (Kallioniemi et al., 1992). La combinación y la mejora en estas últimas técnicas llevarían al surgimiento de análisis basados en array HGC y array de SNP (Single Nucleotide Polymorphisms), denominados whole Genome array; originando así, el surgimiento de una nueva era en la citogenética, la citogenética molecular. Actualmente, la citogenética continúa innovándose, desarrollando nuevos abordajes para descifrar la estructura, función y evolución de los cromosomas. La citogenética como otras ramas de la biología no ha sido una ciencia estática; por el contrario, se trata de un campo altamente dinámico, avanzando mediante la aplicación de estrategias innovadoras que permiten conocer el genoma y a la vez, como éste se ve impactado por diferentes factores, tanto endógenos como exógenos.

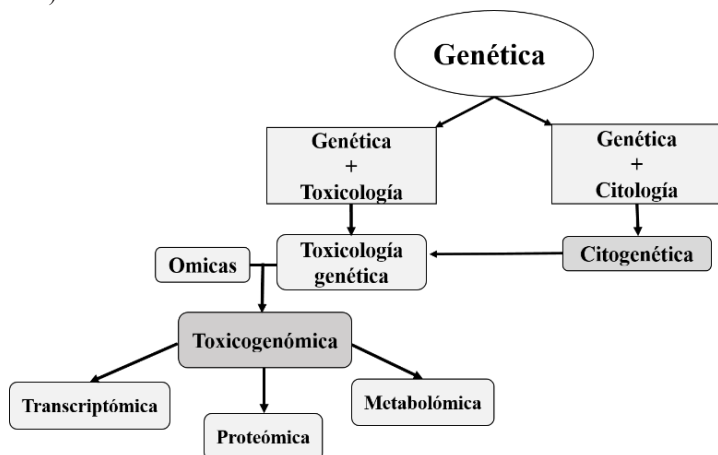
Como se verá más adelante, la aplicación de la citogenética en la búsqueda de respuestas a interrogantes biológicos se ha plasmado a través de diversos modelos como *Drosophila melanogaster*, *Allium cepa*, *Vicia faba*, *Danio rerio*, linfocitos, fibroblastos humanos, médula ósea, líquido amniótico, células germinales entre otros; emergiendo así, la Toxicología Genética, una disciplina de las más indisciplinadas; pero al mismo tiempo, la menos individualista. Se trata de una ciencia multidisciplinaria donde convergen los aportes de la biología, bioquímica, genética, física, química y el papel del ambiente; sumado a ello, el estilo de vida; cuyos resultados y alcances, no solo son extrapolables al individuo; sino también a la población. La toxicología Genética como ciencia surge en un momento crítico para el campo de la toxicología; poco después del gran desastre teratogénico desatado por la talidomida entre los años de 1953 y 1961; es a partir de este hecho, cuando los toxicólogos sugieren prevenir ocurrencias de desastres similares. En 1961, Herman Muller considerado el iniciador de la toxicología genética o mutagenesis ambiental alertó acerca del riesgo genético potencial par humanos y sus futuras generaciones debido al aumento cada vez mayor de químicos ambientales.

En genética toxicológica ninguna prueba es capaz de detectar todos los criterios de valoración genotóxicos; en ese contexto, existe una amplia batería de técnicas tanto *in vivo* como *in vitro* y en poblaciones expuestas, incluyendo biomarcadores de exposición (Intercambio de cromátidas hermanas y el ensayo cometa), biomarcadores de efecto (Aberraciones Cromosómicas y el ensayo de Micronúcleos) y susceptibilidad, tanto genética como epigenética; sea heredada o adquirida, y más recientemente abordajes de Toxicología *in silico*.

La Toxicología computacional, también denominada Toxicología *in silico* se basa en el conocimiento ganado desde diferentes campos científicos, estableciendo que la acción fisiológica de un compuesto es una función de su constitución química. Una consecuencia de esto es el “principio de similitud molecular” que establece que sustancias químicas dependiendo de su naturaleza intrínseca, y con estructuras similar pueden exhibir actividades biológicas similares. Estos abordajes evalúan de manera precisa y confiable las sustancias químicas nuevas y existentes con potencial de toxicidad genética, de manera más eficiente, rentable y con menos dependencia del uso de modelos animales, sugiriendo los principios de las 3Rs: reducir, refinar y reemplazar (Benigni, 2019; Brown y Fraser, 1868; Hemmerich y Ecker, 2020). La relación (cuantitativa) estructura – actividad ((Q)SAR) es un área de la toxicología computacional que predice los posibles efectos adversos de una sustancia química en función de su estructura química. El término (Q) SAR hace una referencia genérica a una relación estructura-actividad que puede ser de naturaleza cualitativa o cuantitativa; colectivamente se refiere a los diferentes métodos de toxicología computacional como QSAR

(también conocido como método basado en estadísticas) y alertas estructurales (también denominado como método experto basado en reglas) (Benigni, Bassan, y Pavan, 2020). En los últimos años, los abordajes de la toxicología computacional han contribuido con el aceleramiento en la identificación de potenciales farmacéuticos; la estimación de la toxicidad basada en abordajes *in silico* está destinada a utilizarse como información complementaria de apoyo a la toma de decisiones en combinación con las pruebas de toxicología tradicional como aporte de un enfoque de ponderación de la evidencia para la evaluación de peligros y riesgos. La toxicología computacional puede de manera eficiente identificar, priorizar y eliminar compuestos con perfiles de seguridad inaceptables en las primeras etapas del proceso de desarrollo de un producto. Softwares como ProTox-II, SwissADME, Pred-hERG, admetSAR, SuperCYPsPred, entre otros, permiten como laboratorios virtuales, estimar parámetros de citotoxicidad, genotoxicidad, hepatotoxicidad, mutagenicidad, carcinogenicidad, inmunotoxicidad rutas toxicológicas de respuesta a estrés e interacción con receptores. En conjunto, la inteligencia artificial y los abordajes *in silico* son las fuerzas que conducen a la toxicología computacional (Kleinstreuer, Tetko, y Tong, 2021).

Adicionalmente, desde el campo de la toxicología genética emerge un nuevo concepto, la Toxicogenómica, campo que estudia toxicología con genómica, bioinformática y otras tecnologías moleculares de alto rendimiento (Wills y Mitchell, 2009). Este campo se ha expandido rápidamente al unir las omicas con la bioinformática, requiriendo así, experiencia en diversas áreas que van desde la toxicología, la genética y la biología molecular hasta la ciencia computacional y la bioinformática. En el contexto de las ciencias de la salud ambiental, la toxicogenómica se definió ampliamente como "la ciencia que combina la genética, la expresión de mRNA a escala genómica, la expresión de proteínas, la elaboración de perfiles de metabolitos y la bioinformática con la toxicología para comprender el papel de las interacciones gen-ambiente en la enfermedad" (Figura 2).



**Figura 2.** La toxicogenómica es el resultado de la interacción de la toxicología con la genética, aplicando este conocimiento a nivel molecular, sobre la regulación de los genes y sus productos (proteínas y sus intermediarios).

Las tecnologías toxicogenómicas ofrecen el potencial de utilizar información genética para identificar subpoblaciones susceptibles y evaluar diferencias en la susceptibilidad en poblaciones más grandes. Además, la toxicogenómica podría abordar los procesos reguladores de la susceptibilidad dentro de una población; así mismo, ofrece una visión para explorar los mecanismos moleculares e identificar el modo de acción, especialmente en el caso de las medicinas tradicionales. Respecto a la relación dosis- respuesta, la toxicogenómica puede auxiliar en mejorar el entendimiento de la relación dosis-respuesta de tóxicos, particularmente a bajos niveles de exposición. En conjunto los enfoques descritos han acelerado los avances en el campo de la toxicología genética; sin embargo, y en la mayoría de las veces, los análisis moleculares emergen como un complemento a la citogenética clásica (Lazarevic y Johansson, 2020).

## Epigenética

Respecto a la epigenética, en la primera mitad del siglo XX la biología del desarrollo y la genética fueron disciplinas separadas; sin embargo, para muchos biólogos la herencia y el desarrollo eran un mismo problema. Según Sandler y Sandler (1985), la genialidad de Mendel consistió precisamente en interpretar y luego demostrar que la herencia podía estudiarse por sí sola, sin incluir el desarrollo; sin embargo, según los mismos autores, esa sería la razón por la que el trabajo de Mendel fue ignorado durante más de 30 años (Sandler y Sandler, 1985). A principios de la década de los 30, la genética se convierte en su propia disciplina, y desarrolla su propio vocabulario, publicaciones, sociedades y reglas de evidencia; emergiendo como resultado, la hostilidad entre la embriología y la genética. No obstante, conforme la genética avanzaba, embriólogos y biólogos del desarrollo se dieron cuenta que la genética y la biología del desarrollo estaban íntimamente relacionadas, y que eventualmente deberían unirse en una disciplina común. Fue entonces cuando Conrad Waddington quien, teniendo conocimientos en ambos campos de investigación, en 1940 introduce la palabra epigenética, derivada de la palabra Aristotélica "epigenesis"; una teoría antigua del desarrollo, que proponía que el embrión temprano era indiferenciado; en contraste con el preformismo, corriente según la cual, el desarrollo de un embrión no es más que el crecimiento de un organismo ya preformado que se encuentra en el esperma (animalculismo). Ahora, la epigenética según Waddington podía definirse como el despliegue genético de aquellas interacciones causales que controlan la acción de los genes durante el desarrollo embrionario (Holliday, 2006).

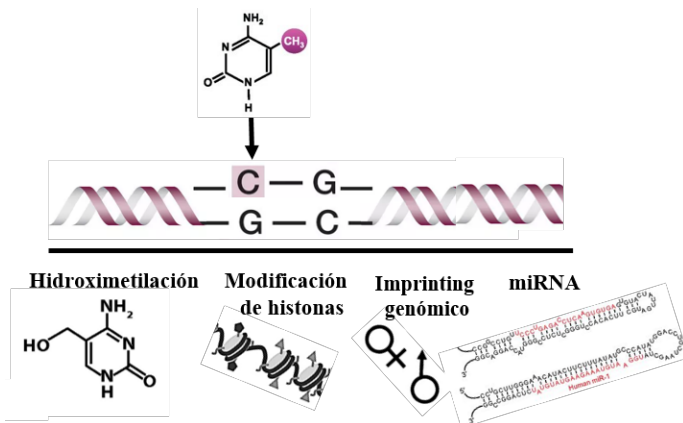
El enfoque clásico en la biología del desarrollo era utilizar las diferencias genéticas para aclarar los procesos embriológicos -una mutación una variación- como efecto primario del gen; sin embargo, el enfoque epigenético de Waddington y otros que le siguieron, era diferente. La epigenética comenzó a interesarse por situaciones en que la variación genética no necesariamente conduce a una variación fenotípica, y la variación fenotípica no siempre resulta de una variación genética. En otras palabras, impulsos diferentes a los genes estaban implicados en esta gama de posibilidades. Un ejemplo clásico en esta escena son los efectos epigenéticos y no genéticos que muestra la diferencia entre una abeja reina y una obrera. El hecho que una larva se convierta en reina u obrera, no está codificado en sus genes; es decir, no depende de su genotipo, depende de la forma como esta sea alimentada; obedece a un estilo de vida en su entorno ambiental, que por efectos epigenéticos otorga individualidad; es decir, el surgimiento de una reina.

Conforme pasaban y cambiaban los tiempos, la epigenética no fue inmune, su concepto también evolucionó, de la misma manera que lo hizo la citogenética y la toxicología genética. Desde Waddington han sido propuestas varias definiciones como la de Brian K. Hall, quien en 1992 la definió como "la suma de factores genéticos y no genéticos que actúan sobre la célula para controlar la expresión del gen que produce una complejidad fenotípica creciente durante el desarrollo" (Hall, 2012). Sin embargo, la definición actual de epigenética es más reduccionista refiriéndose a "cambios heredables en la actividad y expresión génica, sin alterar la secuencia de nucleótidos en el ADN". En este contexto, la epigenética abarca mecanismos necesarios para activar el programa genético que da origen a las diversas formas de vida, a través del desarrollo, la diferenciación, la respuesta al estrés y/o el estado patológico de una célula (Calvanese, Lara, Kahn, y Fraga, 2009).

Existen diversas modificaciones epigenéticas entre ellas la metilación del ADN y la hidroximetilación, las modificaciones post-transcripcionales de las histonas, que incluye la metilación, acetilación, ubiquitinación, fosforilación (Figura 3); además de la implicación de pequeños RNAs no codificantes (Babenko, Kovalchuk, y Metz, 2012; Gangisetty y Murugan, 2016). En conjunto todas estas modificaciones actúan como mediadoras entre el



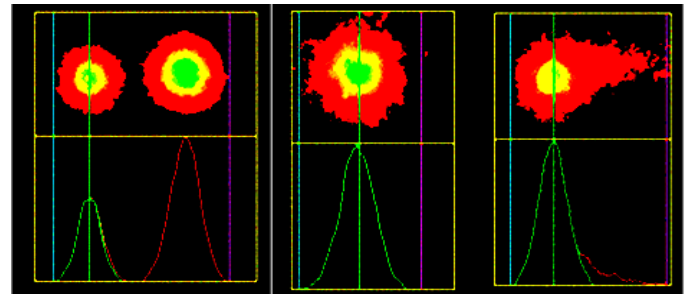
ambiente y el genoma; siendo así, la epigenética se convierte en la segunda capa de información codificada sobre el genoma que guía la actividad y función genómica (Locke et al., 2019). Las diversas vías epigenéticas actúan como mediadoras entre el ambiente y el genoma, las modificaciones epigenéticas se activan por diversas condiciones, como el estrés, la exposición a sustancias químicas, físicas o biológicas con potencial tóxico, y en contraste a las mutaciones genéticas, los mecanismos epigenéticos pueden ser revertidos; esta característica, ofrece una ventana de oportunidades para intervenir terapéuticamente enzimas o factores encargados de su regulación.



**Figura 3.** Regulación epigenética es el estudio de los mecanismos que regulan la expresión de los genes; sin que ello, implica modificación en la secuencia del ADN. Entre los mecanismos epigenéticos está la metilación de la citosina, modificación de histonas, el imprinting genómico y el papel de los RNA pequeños o micro RNAs.

Ahora bien, ¿cuál es la relación entre citogenética, toxicología genética y epigenética? Si bien, a lo largo de 1960 y 1970 se identificaron las anomalías cromosómicas, haciendo que la citogenética determinara no solo la incidencia sino también su significancia; en años recientes, se ha demostrado una correlación significativa entre daños citogenéticos y epigenéticos. Una variedad de agentes genotóxicos pueden inducir por ejemplo formación de Micronúcleos (MNs, también conocidos como cuerpos de Howell-Jolly), los cuales pueden ser observados a través del conteo de MNs mediante una tinción simple con Giemsa, o a través del método de MNs con bloqueo de la citocinesis (CBMN); quiebres en una o en la doble hebra del ADN, observadas a través del ensayo cometa (versión neutra o alcalina) (Figura 4) y el ensayo  $\gamma$ -H2AX; Aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas. Estas alteraciones citogenéticas resultado de efectos aneugénicos o clastogénicos conducen a la muerte celular, inestabilidad genómica o desarrollo de cáncer. Sin embargo, aunque los mecanismos de formación son variados, el rol de la toxicología genética y la epigenética para entenderlos ha ganado en los últimos años importancia en la significancia biológica de esos eventos.

Creciente evidencia demuestra que la regulación en el estatus de la cromatina influencia la inestabilidad genómica, al incrementar la formación de MNs asociados a hipometilación (Aypar, Morgan, y Baulch, 2011). Las regiones centroméricas del cromosoma están epigenéticamente silenciadas por metilación de histonas (H3K9Me3 and H3K27Me); sin embargo, una hipometilación puede modificar la plataforma para la correcta orientación del cinetocoro y segregación cromosómica, resultando en la formación de MNs (Ehrlich, 2002). Otros estudios demuestran que la hipometilación global del ADN se correlacionó con la formación de MNs, aumento de ploidias y quiebres simples y dobles de ADN (Potocki et al., 2012); Así mismo, se ha demostrado que los folatos participan en un ciclo complejo de la homocisteína que produce S-adenosil-metionina (SAM) un donador de grupos metilo a las DNA-metiltransferasas, enzimas claves en la mantención de la metilación del ADN (Guo et al., 2021).



**Figura 4.** Ensayo del cometa: Este biomarcador de efecto evalúa daño primario a la molécula de ADN.

### Retos de la Toxicología Genética

Las anteriores evidencias han permitido direccionar trabajos de investigación de una manera transversal, alternando los abordajes de la citogenética enmarcada en la toxicología genética y la epigenética, dejado claro, que existen mecanismos a través de los cuales diversos agentes, tanto endógenos como exógenos inducen inestabilidad genética; pero a la vez, existen alternativas que pueden minimizar esos efectos y, por tanto, decrecer el impacto en la salud humana y ambiental. Muchas de las enfermedades crónicas debido a su etiología multifactorial, no han conseguido ser explicadas completamente a través de la genética; de igual manera, los abordajes terapéuticos han sido demasiados reduccionistas considerando la comorbilidad que las suele acompañar. En ese contexto, la toxicología genética ha sido un auxilio para estudiar posibles mecanismos asociados a la etiología de la enfermedad con efectos tanto genotóxicos como citotóxicos; al mismo tiempo, la toxicología genética ha permitido evaluar estrategias terapéuticas a partir de plantas con potencial farmacológico; para ello, se han evaluado parámetros de genotoxicidad, antigenotoxicidad, efecto antioxidante y antiinflamatorio (Castillo y Aristizabal-Pachon, 2017; Castillo, Aristizabal-Pachon, de Lima Montaldi, Sakamoto-Hojo, y Takahashi, 2016; Castillo et al., 2018; Castillo, Palomino, Takahashi, y Giuliani, 2020; Gasca et al., 2017; Gasca et al., 2020).

La citogenética y la epigenética en el escenario de la toxicología genética sin lugar a duda son parte esencial en la salud humana y ambiental, una vez que han permitido no solo identificar factores de riesgo asociados a compuestos químicos, físicos y biológicos (Aristizabal-Pachon y Castillo, 2020; Flores-Bracho et al., 2019); sino también, a través de la toxicología genética, el monitoreo ambiental y la epidemiología molecular ha contribuido a delinear políticas de salud pública en el mundo. La utilización de biomarcadores de exposición, efecto y susceptibilidad (genética y adquirida) han mostrado individuos y poblaciones más o menos susceptibles en mayor o menor riesgo de enfermedades como cáncer, Alzheimer entre otras. Diferencias en la susceptibilidad entre individuos y entre poblaciones está determinada por la expresión alterada de genes involucrados en metabolismo (toxificación-detoxicación), reparación de ADN, apoptosis y repuesta inmune. Para el caso particular de países latinoamericanos, los abordajes de la citogenética son una estrategia promisoría para la identificación de riesgo ambiental para la salud asociada al uso indiscriminado de herbicidas, solventes orgánicos, material particulado (presente en las grandes ciudades) y contaminación de aguas por metales pesados como el mercurio, este último con graves repercusiones en la salud humana y la biota acuática, resultado del uso indiscriminado en la minería. En este contexto, abordajes desde la toxicología genética permitirán no solo identificar y cuantificar el riesgo; sino también proponer estrategias y políticas encaminadas a la prevención temprana de potenciales riesgos para la salud por este tipo de exposición. Enfermedades de origen ambiental como el cáncer, además del deterioro de la persona representan gran costo para la familia y los sistemas de salud nacional; por lo tanto, a través de los abordajes de la citogenética y toxicología genética deben prevenirse con el esfuerzo conjunto del gobierno, los investigadores, la industria

y la comunidad.

El siglo XX heredó al siglo XXI la extraordinaria revolución científica de la genética; legado que viene acompañado de la citogenética, la toxicología genética y la epigenética, articulando nuevos abordajes como la bioinformática, aproximación científica que integra diversas disciplinas del conocimiento, y cuyo alcance debe repercutir en la toma de decisiones encaminadas a la prevención del riesgo para la salud, de manera que se viva una vida más sana en un medio ambiente más favorable.

## Bibliografía

- AdmetSAR. A comprehensive source and free tool for evaluating chemical ADMET properties. Available in: (<http://lmmmd.ecust.edu.cn/admetSar1/home/>). 2023.
- Aristizabal-Pachon, A. F., y Castillo, W. O. (2020). Genotoxic evaluation of occupational exposure to antineoplastic drugs. *Toxicological research*, 36(1), 29-36.
- Aypar, U., Morgan, W. F., y Baulch, J. E. (2011). Radiation-induced epigenetic alterations after low and high LET irradiations. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 707(1-2), 24-33.
- Babenko, O., Kovalchuk, I., y Metz, G. A. (2012). Epigenetic programming of neurodegenerative diseases by an adverse environment. *Brain Research*.
- Barber, J. C. (2007). "First years of human chromosomes" The Beginnings of Human Cytogenetics, Peter S. Harper, 2006. In: Springer.
- Benigni, R. (2019). In silico approaches to genetic toxicology: progress and future. *Mutagenesis*, 34(1), 1-2.
- Benigni, R., Bassan, A., y Pavan, M. (2020). In silico models for genotoxicity and drug regulation. *Expert Opinion on Drug Metabolism y Toxicology*, 16(8), 651-662.
- Bolognesi, C., Abbondandolo, A., Barale, R., Casalone, R., Dalprà, L., De Ferrari, M., . . . Lando, C. (1997). Age-related increase of baseline frequencies of sister chromatid exchanges, chromosome aberrations, and micronuclei in human lymphocytes. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 6(4), 249-256.
- Bridges, C. B. (1916). Non-disjunction as proof of the chromosome theory of heredity (concluded). *Genetics*, 1(2), 107.
- Brown, A. C., y Fraser, T. R. (1868). On the connection between chemical constitution and physiological action; with special reference to the physiological action of the salts of the ammonium bases derived from strychnia, brucia, thebaia, codeia, morphia, and nicotia. *Journal of anatomy and physiology*, 2(2), 224.
- Calvanese, V., Lara, E., Kahn, A., y Fraga, M. F. (2009). The role of epigenetics in aging and age-related diseases. *Ageing research reviews*, 8(4), 268-276.
- Caspersson, T., Zech, L., Modest, E., Foley, G., Wagh, U., y Simonsson, E. (1969). Chemical differentiation with fluorescent alkylating agents in *Vicia faba* metaphase chromosomes. *Experimental cell research*, 58(1), 128-140.
- Castillo, W. O., y Aristizabal-Pachon, A. F. (2017). Galantamine protects against beta amyloid peptide-induced DNA damage in a model for Alzheimer's disease. *Neural regeneration research*, 12(6), 916.
- Castillo, W. O., Aristizabal-Pachon, A. F., de Lima Montaldi, A. P., Sakamoto-Hojo, E. T., y Takahashi, C. S. (2016). Galanthamine decreases genotoxicity and cell death induced by  $\beta$ -amyloid peptide in SH-SY5Y cell line. *Neurotoxicology*, 57, 291-297.
- Castillo, W. O., Aristizabal-Pachon, A. F., Sakamoto-Hojo, E., Gasca, C. A., Cabezas-Fajardo, F. A., y Takahashi, C. (2018). Caliphuria subdentata (Amaryllidaceae) decreases genotoxicity and cell death induced by  $\beta$ -amyloid peptide in sh-sy5y cell line. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*.
- Castillo, W. O., Palomino, N. V., Takahashi, C. S., y Giuliani, S. (2020). Genistein and Galantamine Combinations Decrease  $\beta$ -Amyloid Peptide (1–42)–Induced Genotoxicity and Cell Death in SH-SY5Y Cell Line: an In Vitro and In Silico Approach for Mimic of Alzheimer's Disease. *Neurotoxicity Research*. doi:10.1007/s12640-020-00243-8
- Dutrillaux, B., y Lejeune, J. (1971). A new technic of analysis of the human karyotype. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences. Serie D: Sciences naturelles*, 272(20), 2638-2640.
- Ehrlich, M. (2002). DNA methylation in cancer: too much, but also too little. *Oncogene*, 21(35), 5400-5413.
- Ferguson-Smith, M. A. (2015). History and evolution of cytogenetics. *Molecular cytogenetics*, 8(1), 1-8.
- Flores-Bracho, M. G., Takahashi, C. S., Castillo, W. O., Saraiva, M. C. P., Kuchler, E. C., Matsumoto, M. A. N., . . . Romano, F. L. (2019). Genotoxic effects in oral mucosal cells caused by the use of orthodontic fixed appliances in patients after short and long periods of treatment. *Clinical oral investigations*, 23(7), 2913-2919.
- Gangisetty, O., y Murugan, S. (2016). Epigenetic modifications in neurological diseases: natural products as epigenetic modulators a treatment strategy. In *The Benefits of Natural Products for Neurodegenerative Diseases* (pp. 1-25): Springer.
- Gasca, C. A., Castillo, W. O., Takahashi, C. S., Fagg, C. W., Magalhães, P. O., Fonseca-Bazzo, Y. M., y Silveira, D. (2017). Assessment of anti-cholinesterase activity and cytotoxicity of cagaita (*Eugenia dysenterica*) leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 996-1002.
- Gasca, C. A., Moreira, N. C., de Almeida, F. C., Gomes, J. V. D., Castillo, W. O., Fagg, C. W., . . . de Medeiros, Y. K. (2020). Acetylcholinesterase inhibitory activity, anti-inflammatory, and neuroprotective potential of *Hippeastrum psittacinum* (Ker Gawl.) herb (Amaryllidaceae). *Food and Chemical Toxicology*, 145, 111703.
- Guo, T., Dai, Z., You, K., Battaglia-Hsu, S.-F., Feng, J., Wang, F., . . . Li, Z. (2021). S-adenosylmethionine upregulates the angiotensin receptor-binding protein ATRAP via the methylation of HuR in NAFLD. *Cell Death y Disease*, 12(4), 1-12.
- Hall, B. K. (2012). Evolutionary developmental biology (Evo-Devo): Past, present, and future. *Evolution: Education and outreach*, 5(2), 184.
- Hemmerich, J., y Ecker, G. F. (2020). In silico toxicology: From structure–activity relationships towards deep learning and adverse outcome pathways. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 10(4), e1475.
- Holliday, R. (2006). Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics*, 1(2), 76-80.
- Kallioniemi, A., Kallioniemi, O.-P., Sudar, D., Rutovitz, D., Gray, J. W., Waldman, F., y Pinkel, D. (1992). Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*, 258(5083), 818-821.
- Kleinstreuer, N. C., Tetko, I. V., y Tong, W. (2021). Introduction to Special Issue: Computational Toxicology. In: ACS Publications.

30. Lazarevic, V. L., y Johansson, B. (2020). Why classical cytogenetics still matters in acute myeloid leukemia. *Expert review of hematology*, 13(2), 95-97.
31. Locke, W. J., Guanzon, D., Ma, C., Liew, Y. J., Duesing, K. R., Fung, K. Y., y Ross, J. P. (2019). DNA methylation cancer biomarkers: Translation to the clinic. *Frontiers in Genetics*, 10.
32. Malcolm, S., Barton, P., Murphy, C., & Ferguson-Smith, M. (1981). Chromosomal localization of a single copy gene by in situ hybridization-human  $\beta$  globin genes on the short arm of chromosome 11. *Annals of Human Genetics*, 45(2), 135-141.
33. Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellman, W. J., Battips, D. t., y Hungerford, D. A. (1960). Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Experimental cell research*, 20(3), 613-616.
34. Natarajan, A. (1993). Mechanisms for induction of mutations and chromosome alterations. *Environmental health perspectives*, 101(suppl 3), 225-229.
35. Potocki, L., Lewinska, A., Klukowska-Rötzler, J., Bugno-Poniewierska, M., Koch, C., Mählmann, K., . . . Wnuk, M. (2012). DNA hypomethylation and oxidative stress-mediated increase in genomic instability in equine sarcoid-derived fibroblasts. *Biochimie*, 94(9), 2013-2024.
36. ProTox-II. ProTox-II - Prediction Of Toxicity Of Chemicals.
37. Available in: ([https://tox-new.charite.de/prottox\\_II/](https://tox-new.charite.de/prottox_II/)). 2023.
38. Sandler, I., y Sandler, L. (1985). A conceptual ambiguity that contributed to the neglect of Mendel's paper. *History and philosophy of the life sciences*, 3-70.
39. Steele, M., y Breg Jr, W. R. (1966). Chromosome analysis of human amniotic-fluid cells. *The Lancet*, 287(7434), 383-385.
40. Sumner, A., Evans, H., y Buckland, R. (1971). New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biology*, 232(27), 31-32.
41. SuperCYPsPred. SuperCYPsPred- A Web Server for the Prediction of Cytochrome activity. Available in: (<http://insilico-cyp.charite.de/SuperCYPsPred/index.php?site=home>). 2023.
42. Sutton, W. S. (1903). The chromosomes in heredity. *The Biological Bulletin*, 4(5), 231-250.
43. SwissADME. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* (2017) 7:42717. Available in: (<http://www.swissadme.ch/index.php>), Pred-hERG 4.2 (<http://predherg.labmol.com.br/>). 2023.
44. Tjio, J. H., y Levan, A. (1956). The chromosome number of man. In *Problems of Birth Defects* (pp. 112-118): Springer.
45. Villela, D., de Barros, J. S., da Costa, S. S., Aguiar, T. F., Campagnari, F., Vianna-Morgante, A. M., . . . Rosenberg, C. (2021). Detection of mosaicism for segmental and whole chromosome imbalances by targeted sequencing. *Annals of Human Genetics*, 85(1), 18-26.
46. Wills, Q., y Mitchell, C. (2009). Toxicogenomics in drug discovery and development—making an impact. *Alternatives to Laboratory Animals*, 37(1\_suppl), 33-37.
47. Yunis, J. J. (1976). High resolution of human chromosomes. *Science*, 1268-1270.
48. Zhivago, P., Morosov, B., y Ivanickaya, A. (1934). Uber die Einwirkung der Hypotonie auf die Zellteilung in den Gewebkulturen des embryonalen Hertzens. *CR Acad Sci URSS*, 3, 385-386.