

**INFLUENCIA DE LA CAFEINA EN LA PRODUCCION DE TRANSLOCACIONES
INDUCIDAS CON RAYOS GAMA EN ESPERMATOZOIDES DE DROSOPHILA
MELANOGASTER**

*Néstor López(1)
Margarita Zuleta (1)*

RESUMEN

Machos silvestres de 5 días de edad se trataron con una solución de cafeína al 0.2% durante 72 horas. Luego fueron irradiados con diferentes dosis de rayos gama (1000, 2000, 3000 y 4000 rads). Estos machos tratados se cruzaron con hembras bw; e homocigóticas de 3 días de edad por 24 horas. Se hizo un control en las mismas condiciones pero sin cafeína. De este cruce se seleccionaron los machos F₁ con fenotipo normal y se cruzaron individualmente con hembras homocigóticas bw; e. El análisis de los fenotipos que aparecen en la F₂ permite conocer las translocaciones producidas en los espermatozoides maduros de la P₁.

Los datos indican que la producción de translocaciones por rayos gama en espermatozoides es más frecuente cuando los machos de Drosophila expuestos a la radiación no han sido tratados con cafeína, excepto para 4000r, donde se observó lo contrario. Se puede deducir de lo anterior que el tratamiento con cafeína reduce la recuperación de translocaciones que se pueden producir por efecto de los rayos gama aplicados a dosis menores de 4000r. La reducción en la frecuencia de translocaciones a causa de la cafeína se puede explicar teniendo en cuenta que las rupturas cromosómicas por efecto de la radiación también fragmenta el DNA. Este hecho facilita la unión de moléculas de cafeína al DNA alterado, lo que impide luego la reunión de los fragmentos cromosómicos. Como resultado de lo anterior se rebaja la formación de translocaciones; pero en cambio se producen deficiencias en el DNA que ocasionan cigotes no viables.

En general, con tratamiento de cafeína o sin él, a altas dosis de radiación mayores a 4000r disminuye la obtención de translocaciones. Esto se debe a que tan altas dosis de radiación aumentan considerablemente las mutaciones letales dominantes, las rupturas cromosómicas y las translocaciones no viables.

De lo anterior se deduce que la cafeína puede aumentar el riesgo de mortalidad celular por tratamiento con radiaciones y otros agentes que causan rompimiento cromosómico, pero en cambio disminuye la formación y sobrevivencia de translocaciones transmisibles.

(1) Profesores del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

INTRODUCCION

Una gran proporción de la población humana está expuesta a la acción de la cafeína por su consumo, tanto en aditivos de drogas y bebidas corrientes como café, té y bebidas refrescantes, consumiendo soluciones de 0.050/o a 0.010/o de cafeína diariamente.

Luego que entra al tracto digestivo, la cafeína es distribuida por todos los tejidos, para metabolizarse y ser transformada en ácido úrico. Como no se presenta acumulación por el consumo diario, la cafeína no representa un riesgo serio como mutágeno. (Kihlman 1974).

Debido a su analogía estructural con las purinas se ha estudiado su actividad mutagénica y aunque su acción no se conoce ampliamente, parece que actúa sobre un mecanismo de reparación de rupturas cromosómicas (Mendelson 1974 y Ostertag 1965). La cafeína se conoce también por su capacidad de modificar los efectos genéticos inducidos por otros agentes como los rayos X, gama, y luz ultravioleta, y químicos, como agentes alquilantes, actinomicina D e hidrázida maleica. (Domon 1970; Harm 1970).

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar la producción de translocaciones en machos de *Drosophila melanogaster* tratados con cafeína y rayos gama.

MATERIALES Y METODOS

Las marcas genéticas de las cepas de *D. melanogaster* empleadas son las siguientes (según nomenclatura de Lindsley y Grell 1968):

Cepa bw; e (brown: ojo café, localizado en 2-104,5 y ebony: cuerpo oscuro ubicado en 3-70.7).

- Cepa Canton -S (Normal).

Tratamiento con cafeína. Se tomaron machos de la cepa Canton -S de 5 días de edad y se colocaron durante 72 horas en un recipiente de vidrio con papel absorbente humedecido con una solución de cafeína al 0.20/o y 100/o de glucosa. Adiciones periódicas de la solución permitían mantenerla en cantidades adecuadas.

Irradiación. Los machos tratados con cafeína se colocaron en tubos de vidrio de 7 cms. de largo por 2.5 cms. de ancho para someterlos a la acción de los rayos gama, en una máquina Gammatron-3 con fuente de cobalto 60, en la sección

de Radioterapia del Hospital Universitario, con un rendimiento de 72.4 roentgens por minuto. El material se dejó expuesto hasta completar dosis de 1.000, 2.000, 3.000 y 4.000 roentgens. Inmediatamente después estos machos se cruzaron con hembras homocigóticas bw;e de 3 días de edad, por 24 horas, con el fin de que fueran fecundadas sólo por espermatozoides maduros. Luego, las hembras fueron transferidas tres veces a frascos con alimento fresco para permitir una ovoposición completa. Para el control se llevó a efecto el mismo procedimiento anterior con la sola diferencia de que los machos Canton-S de 5 días de edad estuvieron por 72 horas en una solución de glucosa al 100/o, sin cafeína. De los cruces se seleccionaron los machos F₁ con fenotipo normal y se cruzaron individualmente con hembras vírgenes homocigóticas con las marcas bw;e.

El análisis de los fenotipos que aparecen en la F₂ permite reconocer las translocaciones producidas en los espermatozoides de la P₁.

RESULTADOS

La tabla No. 1 muestra la frecuencia de translocaciones obtenidas con tratamiento de cafeína o sin tratamiento. Se puede observar en dicha tabla que el tipo de translocaciones 2-yY es la menos frecuente y la 2-3 la más frecuente.

Para obtener la relación entre dosis de radiación aplicada en presencia o ausencia de cafeína y frecuencia de translocaciones se hizo análisis de regresión utilizando la fórmula $\hat{Y} = aD$ Donde \hat{Y} es la frecuencia de translocaciones esperada para cada dosis de radiación a representa el incremento o pendiente de la línea ($a = \frac{\sum XY}{\sum X^2}$) D es la dosis de rayos gama aplicada. Y representa la frecuencia de translocaciones observada para cada dosis de radiación y X representa las diferentes dosis de radiación aplicadas.

La curva que representa la relación entre dosis de rayos gama sin cafeína y producción de translocaciones se ajusta a la fórmula $\hat{Y} = 2.10^{-5} D^{17/16}$ con $X^2_3 = 6.9$ $0.10 > p > 0.01$

Quando las moscas fueron tratadas con cafeína no se pudo obtener una relación estable aplicando el análisis de regresión por lo tanto en este caso se trazó la curva en base a las frecuencias observadas.

Las curvas de la gráfica No. 1 representan la relación existente entre la frecuencia de translocaciones v/s dosis de radiación, tanto para moscas tratadas como no tratadas con cafeína.

En estas curvas la intercepción se hace igual a cero ya que la frecuencia de translocaciones espontánea es muy baja: 8×10^{-6} (Glass 1955).

TABLA 1. FRECUENCIA DE TRANSLOCACIONES DE TODOS LOS TIPOS OBSERVADOS INDUCIDOS CON RAYOS GAMMA EN ESPERMATOZOIDES DE DROSOPHILA MELANOGASTER

Dosis en roentgens	No. de estériles		Tipos de Translocación								No. Total de Translocaciones		IES
			T2-3		T2-y		T3-y		T2-3		No. Total de cromosomas analizados		
			g	c	g	c	g	c	g	c	g	c	
1.000	3	22	8	11	2	0	5	0	0	0	$\frac{15}{781} = 0.019\%$	$\frac{11}{1131} = 1\%$	0.006
2.000	0	38	5	29	5	3	0	0	0	1	$\frac{10}{145} = 0.069\%$	$\frac{33}{976} = 3.4\%$	0.0204
3.000	12	57	14	22	0	1	3	0	0	1	$\frac{17}{177} = 9.6\%$	$\frac{24}{667} = 3.6\%$	0.0223
4.000	25	76	19	36	1	1	0	0	0	0	$\frac{20}{329} = 6.1\%$	$\frac{37}{493} = 7.5\%$	0.0187

g: Indica que las moscas solo se alimentaron con glucosa al 100/o.

c: Indica que las moscas se alimentaron con glucosa más cafeína al 0.20/o.

DISCUSION

Los datos de la tabla No. 1 y las gráficas No. 1 y 2 indican que la producción de translocaciones por rayos gamma en espermatozoides es más frecuente cuando los machos de *Drosophila* expuestos a la radiación no han sido tratados con cafeína, excepto para 4000r donde se observó lo contrario. Lo anterior indica que el tratamiento con cafeína reduce la recuperación de translocaciones producidas por rayos gamma aplicados en dosis menores de 4000r.

La reducción de la frecuencia de translocaciones en las moscas tratadas con cafeína puede explicarse teniendo en cuenta el efecto que la cafeína produce en la inhibición del mecanismo de reparación del DNA (Lehman 1972).

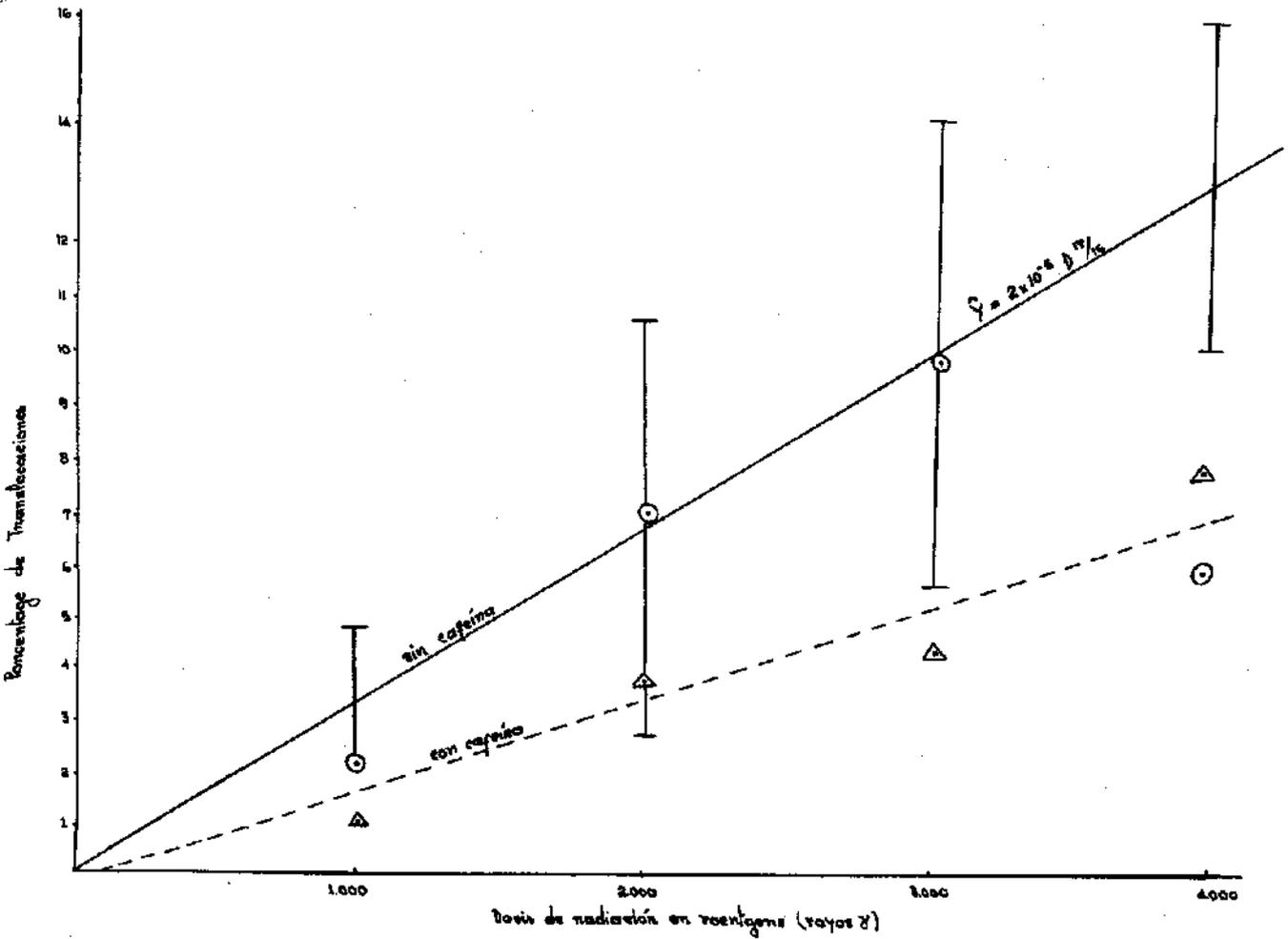
Posiblemente la ruptura del DNA ocasionada por la radiación facilita la unión de moléculas de cafeína al DNA alterado, lo que impide la reunión de fragmentos cromosómicos y en consecuencia, el DNA queda expuesto a la acción de nucleasas (Chetsanga 1976) y además pueden quedar libres fragmentos cromosómicos acéntricos que se pierden durante la primera mitosis del cigote. Como resultado de lo ante-

nior disminuirá la formación de translocaciones, pero en cambio se producirán deficiencias en el DNA que ocasionarán cigotes no viables.

En general con tratamiento de cafeína o sin él, a dosis de radiación mayores de 4000r, disminuye la obtención de translocaciones. Esto posiblemente se debe a que a tan altas dosis de radiación aumentan considerablemente las mutaciones letales dominantes, las rupturas cromosómicas y las translocaciones no viables (Muller 1954).

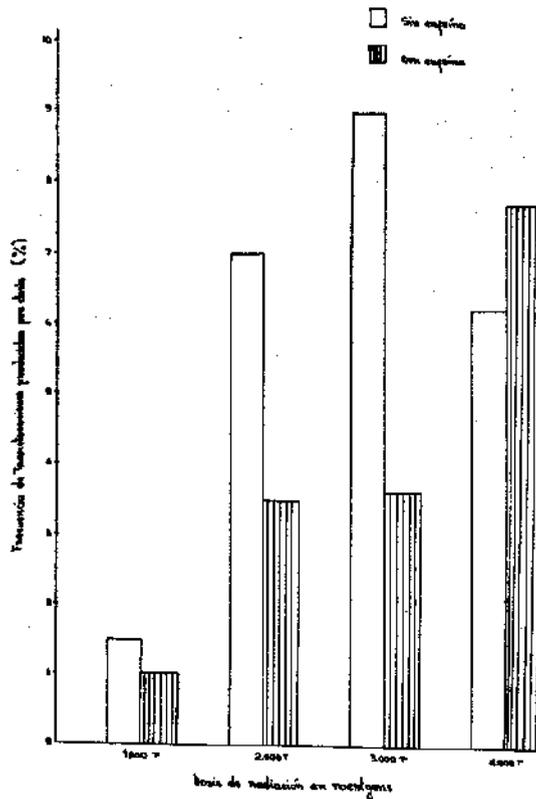
La baja frecuencia que se observa en las translocaciones 2-3-Y puede ser interpretada con base en la gran cantidad de energía radiante requerida para producir los 3 rompimientos cromosómicos. Las translocaciones 2-Y y 3-Y solo necesitan 2 rompimientos mientras que las translocaciones 2-3-Y requieren 3.

Según lo anterior se espera que la cafeína aumente la producción de mutaciones letales dominantes en organismos expuestos a las radiaciones y otros agentes que produzcan rompimiento cromosómico, por lo tanto es aconsejable controlar la cantidad de cafeína que se ingiere antes de exponerse a algún tipo de radiación.



GRAFICA 1. Relación entre dosis de radiación con o sin cafeína y Frecuencia de Translocaciones.

ASA



GRAFICA 2.

BIBLIOGRAFIA

- Adler, I. D. 1970. Chemical mutagenesis in mammals and man. Springer-Berlin-Heidelberg- New York, pp 383.
- Chetsanga C. J. K. Rushlow y V. Boyd. 1976. Caffeina enhancement of digestion of DNA by nuclease S. Mut. Res 34: 11 - 20.
- Domen, M., B. Barten, A. Porte y M. Rauth, 1970. The interaction of caffeine with ultraviolet-light- irradiated DNA, Intern. J. Radiation Biol 17: 395-399.
- Glass, B. 1955. A comparative study of induced mutations in the oocytes and spermatozoa of *Drosophila melanogaster*. Genetics 40: 252-267.
- Harm, W., 1970. Analysis of photoenzymatic repair of UV lesion in DNA by single light flasher, VIII. Inhibition of photoenzymatic repair of UV lesions in *E. coli* DNA by caffeine. Mut. Res 70: 319-383.
- Khilman, B. A. 1974. Effects of caffeine on the genetic material. Mut. Res 26: 53-71.
- Lehman, A. R. y S. Kirk-Bell, 1974. Effects of caffeine and theophylline on DNA synthesis in unirradiated and U-V irradiated mammalian cell, Mut. Res 26: 73 - 82.
- Lindsley, D. L. y E. H. Grell, 1968. Genetic variations of Washington Publication No. 627.
- Mendelson, D. 1974. The effect of caffeine on repair systems in oocytes of *Drosophila melanogaster*, I. Mut. Res 22: 745 - 156.
- Muller, K. 1954. The relation of neutron dose to chromosome change and point mutations in *Drosophila*. Am. Naturalist 88: 437 - 459.
- Ostertag, W. E. Duisberg y M. Sturmann, 1965. The mutagenic activity of caffeine in man, Mut. Res. 2: 293 - 296.