



**IV REUNION CIENTIFICA  
DE LA SOCIEDAD  
ESPAÑOLA DE  
MUTAGENESIS AMBIENTAL**

---



**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA**

Zaragoza, 2 y 3 de Julio de 1992



**IV REUNION CIENTIFICA DE LA SOCIEDAD  
ESPAÑOLA DE MUTAGENESIS AMBIENTAL**

**Zaragoza, 2 y 3 de Julio de 1992**

**Organizado por el Area de Farmacología  
del Departamento de Farmacología y Fisiología de la  
Universidad de Zaragoza.**

**Comité organizador:**

B. Sinués  
J. Lanuza  
M.L. Bernal  
M.A. Sáenz  
M. Bartolomé

PROGRAMA CIENTÍFICO

Jueves 2 de Julio

9.00 Desayuno de bienvenida.

9.30 Sesión inaugural presidida por la Ilustre Sra. D<sup>a</sup> Blanca Leizaola,  
Vicerrectora de Investigación de la Universidad de Zaragoza.

10.00 Conferencia inaugural:  
"Mutagenesis and cancer: a review of DNA damage"  
Dr. E. H. Munn, Johns Hopkins Univ., Baltimore

11.15 Sesión de bienvenida.

11.45 Conferencia de inauguración:  
"Mutagenesis and cancer: a review of DNA damage"  
Dr. E. H. Munn, Johns Hopkins Univ., Baltimore

1. "Genotoxicity Assessment of mutagens at the population level: a review of the methods used in the epidemiology of DNA damage and cancer"  
Dr. E. H. Munn, Johns Hopkins Univ., Baltimore

2. "Mutagenesis and cancer: a review of DNA damage and cancer"  
Dr. E. H. Munn, Johns Hopkins Univ., Baltimore

3. "Mutagenesis and cancer: a review of DNA damage and cancer"  
Dr. E. H. Munn, Johns Hopkins Univ., Baltimore

4. "Mutagenesis and cancer: a review of DNA damage and cancer"  
Dr. E. H. Munn, Johns Hopkins Univ., Baltimore

5. "Mutagenesis and cancer: a review of DNA damage and cancer"  
Dr. E. H. Munn, Johns Hopkins Univ., Baltimore

13.30 Almuerzo.

14.30 Conferencia:  
"Mutagenesis and cancer: a review of DNA damage and cancer"  
Dr. E. H. Munn, Johns Hopkins Univ., Baltimore

16.15 Presentación.

18.30 Cena de despedida de la S.E.M.A.

**Patrocinada por:**

Universidad de Zaragoza  
European Environmental Mutagen Society  
Caja de Ahorros de la Inmaculada  
Diputación Provincial de Zaragoza

## PROGRAMA CIENTIFICO

### Jueves 2 de Julio

- 9.00 Entrega de documentación.
- 9.30 Sesión inaugural presidida por la Exma. Sra. D<sup>a</sup> Blanca Conde, Vicerrectora de Investigación de la Universidad de Zaragoza.
- 10.00 Conferencia inaugural:  
" *Human repair genes involved in DNA lesions*".  
Dra. Ethel Moustacchi, Instituto Curie, Paris.
- 11.15 Pausa-Café.
- 11.45 1<sup>a</sup> Sesión de comunicaciones orales.  
Moderador: Dr. M.A. Comendador, Universidad de Oviedo.
1. *Spontaneous frequencies of mutation at the hypoxanthine-phosphoribosyl transferase (HPRT) and at the glycophorin A (GPA) loci in fanconi anemia patients and in normal donors.*  
Sala-Trepat M, Boyse J, Richard P, Papadopoulos D, and Moustacchi E.
  2. *Análisis molecular del espectro mutacional inducido por hexametilmelamina en el gen vermilion de drosophila melanogaster.*  
Aguirrezabalaga I, Nivard M, Comendador MA, Vogel EW.
  3. *Papel de la 8-hidroxiguanina-ADN glicosilasa frente a la genotoxicidad de la 4-nitroquinolina 1-oxido.*  
Ruiz-Laguna J, Ariza R.R., y Pueyo C.
  4. *Aplicación del gen supF como blanco genético para estudios comparativos de especificidad mutagénica en bacterias.*  
Roldán-Arjona T, Ariza R.R., Ferrezuelo F, López-Luque F, Hera C y Pueyo C
  5. *Influencia del fondo genético en el test SMAR w/w<sup>+</sup>*  
Aguirrezabalaga I, Ruiz de Azua I y Comendador M.A.
- 13.30 Almuerzo.
- 15.00 Conferencia:  
" *Genotoxicidad de plaguicidas* "  
Dr. R. Marcos, U.A.B. Barcelona.
- 16.15 Pausa-café.
- 16.30 Reunión anual de la S.E.M.A.

**Viernes 3 de Julio**

9.30 2ª Sesión de Comunicaciones orales.

Moderador: Dr. Javier Lanuza, Farmacología. Universidad de Zaragoza.

6. *Análisis de 4 plaguicidas mediante el test S.M.A.R.T. de Drosophila melanogaster.*

Osaba L, Aguirre A y Alonso A.

7. *Medida de la persistencia de lesiones en el ADN causadas por mutágenos químicos en células de mamíferos.*

Cortés F, Escalza P, Piñero J, Daza P y Mateos S.

8. *Evaluación genotóxica de los insecticidas piretroides deltametrin y fenvalerato utilizando cultivos celulares in vitro de células de ovario de hamster chino.*

Caballo C, Barrueco C, Herrera A, Santa María A, Sanz F y de la Peña E.

9. *Caracterización del ensayo de intercambio de cromátidas hermanas en la especie bovina.*

Catalán J, Moreno C, Arruga MV.

10. *Efecto de la concentración de citocalasina-B sobre la frecuencia de micronúcleos en cultivos de linfocitos humanos.*

Surrallés J, Carbonell E, Umbert G, Xamena N, Creus A y Marcos R.

11. *Actividad mutagénica de material particulado atmosférico: contribución de los compuestos nitroderivados.*

Casellas M, Fernández P, Bayona JM, y Solanas AM.

11.00 Pausa-café.

11.30 3ª sesión de comunicaciones orales.

Moderador: Dra. A. López de Ceraín. C.I.F.A. Universidad de Navarra

12. *Respuesta adaptativa al daño oxidativo en linfocitos humanos.*

Escalza P, Domínguez I, Panneerselvam N y Cortés F.

13. *Genotoxicidad de tres herbicidas en cultivos de linfocitos humanos.*

Ribas G, Surrallés J, Umbert G, Carbonell E, Xamena N, Creus A y Marcos R.

14. *Glutathion reducido eritrocitario y mutagenicidad urinaria en niños tratados con paracetamol.*

Bernal ML, Sinués B, Mayayo E y Lanuza J.

15. *Biomarcadores citogenéticos de exposición a mutágenos y hemoglobina glicosilada en pacientes diabéticos insulín-dependientes.*

Sáenz MA, Barra A, Jiménez A, Bernal ML, Lanuza J, Bartolomé M y Sinués B

16. *Estudio citogenético en pacientes asmáticos en tratamiento continuo con teofilina y otros antiasmáticos.*

Sinués B, Broto A, Suarez MA, Bernal ML, Lanuza J, Sáenz MA y Duce F.

17. *Biomonitorización de la exposición ambiental y laboral a arilaminas y su relación con el polimorfismo de N-acetilación.*

Sinués B, Perez J, Sáenz MA, Lanuza J, Tres A y Bartolomé M.

18. *Viabilidad de los ensayos de mutagénesis en el control de calidad de los alimentos.*

Moya Esteve P, Salas Zapatero J y Fernández Peitado R.

13.30 Almuerzo.

15.00 4ª sesión de comunicaciones orales.

Moderador: Dr. N. Xamena, U.A.B. Barcelona.

19. *Estudio del efecto de los genes umuDC y mucAB en la mutagénesis producida por ciprofloxacina en Salmonella typhimurium y Escherichia coli.*

Clerch B, Rivera E, Barbé J y Llagostera M.

20. *Mutagenicidad de MMS, EMS, y HMPA en la línea white-ivory de drosophila.*

Ferreiro J. A., Consuegra S, Sierra LM, y Comendador MA.

21. *Efectos de diez carcinógenos en el ensayo de mutación somática white-ivory en drosophila.*

Batiste-Alentorn M, Xamena N, Creus A y Marcos R.

22. *Utilización de mutantes white de drosophila, portadores de retrotransposones, en la detección de mutagenicidad en células somáticas.*

Soriano S, Xamena N, Creus A y Marcos R

23. *Mutagenicidad de la acroleína en líneas mus(2)201 y mus (3)308 de drosophila melanogaster.*

Barros AR, Apesteguía A, Sierra LM y Comendador MA.

16.15 Pausa-café.

16.30 Mesa Redonda:

Moderador: Dra. Carmen Barrueco. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Madrid.

" *Criterios para la clasificación de los productos químicos según sus efectos sobre la salud humana*".

Dr. E. de la Peña. Centro de Ciencias Medioambientales. Madrid.

## Ponencia

### GENOTOXICIDAD DE LOS PLAGUICIDAS

Marcos, R.

departament de Genètica i de Microbiologia. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

Los plaguicidas son compuestos sintéticos ampliamente utilizados en la lucha contra las plagas y contra vectores de determinadas enfermedades y que, consecuentemente, presentan una extensa distribución en el ambiente. El que exista un número muy elevado de personas expuestas a sus efectos, ya sea de manera crónica o aguda, la elevada reactividad biológica de estos agentes, junto a sus demostrados efectos perniciosos sobre la salud y los ecosistemas, ha hecho que los plaguicidas sean considerados como potentes contaminantes ambientales.

El hecho de que, además de sus efectos tóxicos generales, algunos plaguicidas puedan presentar actividad genotóxica ha motivado el que cada vez haya un mayor número de investigadores trabajando en la evaluación y conocimiento del riesgo genotóxico que pueda suponer la exposición frente a dichos agentes.

Aquí se presenta una visión general sobre el estado actual de la investigación genotóxica en plaguicidas, junto con algunos de los resultados obtenidos por nuestro grupo en este campo. Una perspectiva histórica de la génesis de los plaguicidas, su clasificación y estructuras, su evaluación mutagénica *in vitro* e *in vivo*, estudios de carcinogénesis llevados a cabo, su relación con la incidencia de cáncer en humanos y estudios sobre inducción de alteraciones citogenéticas en poblaciones humanas expuestas, son algunos de los aspectos a desarrollar.

# 1

## **SPONTANEOUS FREQUENCIES OF MUTATION AT THE HYPOXANTHINE PHOSPHORIBOSYL TRANSFERASE (HPRT) AND AT THE GLYCOPHORIN A (GPA) LOCI IN FANCONI ANEMIA PATIENTS AND IN NORMAL DONORS.**

Sala-Trepat, M., \*Boyse, J., \*\*Richard, P., Papadopoulo, D., and Moustacchi, E.

Institut Curie-Biologie, Paris, France. \*Royal Hospital for Sick Children, Bristol, United Kingdom. \*\* Hôpital St Louis, Paris France.

Fanconi anemia (FA), a cancer prone genetic disorder, is characterized at the cellular level by an abnormally high incidence of chromosomal breakage, both spontaneously, and induced after treatment with crosslinking agents. We measured the frequencies of somatic mutation 1) at the HPRT locus in circulating T lymphocytes and 2) at the GPA locus in erythrocytes from individuals with blood group MN (variants NO and NN are scored). Blood samples from FA patients, FA parents (heterozygotes), and normal donors were analysed.

We show, in accord with in vitro data, that there is no significant mutator effect at the HPRT locus in FA patients, as well as in heterozygotes.

In contrast, there is a considerable difference in the frequency of variants (NO and NN) at the GPA locus. The mean frequencies of NO and NN variants in FA patients were elevated 33- and 7-fold, respectively, over normal and heterozygote controls.

The difference between the HPRT (lymphocytes) and the GPA (erythrocytes) loci response in FA patients can be interpreted according to the molecular events leading to each type of mutation (base substitutions and deletions for dividing cells in the case of HPRT versus allele loss and recombination for non-dividing cells at the GPA locus).

The relation between chromosomal instability, gene mutations and cancer susceptibility will be discussed.



**ANALISIS MOLECULAR DEL ESPECTRO  
MUTACIONAL INDUCIDO POR HEXAMETIL-  
MELAMINA EN EL GEN VERMILION DE  
DROSOPHILA MELANOGASTER.**

\*,\*\*Aguirrezabalaga, I., \*\*Nivard, M., \*Comendador, M.A. y  
\*\*Vogel E.W.

\*Area de Genética. Dpt. Biología Funcional. Univ. Oviedo. \*\*Dpt. of Radiation  
Genetics and Chemical Mutagenesis. Leiden. Holanda.

Hexametilmelamina (HEMEL) es una droga citostática, más conocida como altretamina, ampliamente utilizada en el tratamiento de estados avanzados del cáncer de ovario. Este compuesto es activado mediante la hidroxilación de sus grupos metilo y posterior liberación de formaldehído. No está claro qué metabolito es el principal responsable de su citotoxicidad y mutagenicidad. De acuerdo con el valor de su cociente CA/SLRL, se ha propuesto como un agente alquilante polifuncional productor de enlaces cruzados.

El locus diana utilizado para este análisis es vermilion. La frecuencia de letales recesivos ligados al cromosoma X inducida por HEMEL (0.4mM en el alimento durante tres días) fue del 11% y la esterilidad del 8.9%. Se obtuvieron un total de 28 mutantes vermilion, 15 de los cuales fueron analizados a nivel molecular y citológico. Todos ellos resultaron ser deleciones; dos tercios corresponden a deleciones "multi-locus" y un tercio a deleciones "intra-locus" acompañadas de pequeñas inserciones.

Los resultados obtenidos concuerdan con los de trabajos anteriores y son una fuerte sugerencia de que los agentes productores de enlaces cruzados inducen exclusivamente deleciones.

## **PAPEL DE LA 8-HIDROXIGUANINA-ADN GLICOSILASA FRENTE A LA GENOTOXICIDAD DE LA 4-NITROQUINOLINA 1-OXIDO**

Ruiz-Laguna, J, Ariza. R.R., y Pueyo, C.

Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. 14071- CORDOBA

La 8-hidroxi guanina (8-OH-G) se considera la principal lesión responsable de la genotoxicidad de las especies activas de oxígeno. Sin embargo, la formación de 8-OH-G en el ADN no es exclusiva de mecanismos de tipo oxidativo. Así, la 4-nitroquinolina 1-óxido (4NQO) es capaz de inducir esta lesión mediante un proceso en el que no intervienen radicales de oxígeno. El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar la importancia relativa de la 8-OH-G en los efectos genotóxicos de este potente carcinógeno. Para ello se ha estudiado en detalle el papel de la 8-hidroxi guanina-ADN glicosilasa (8-OH-G glicosilasa) de *Escherichia coli* frente a la genotoxicidad de la 4NQO.

La mutagenicidad de la 4NQO se cuantificó seleccionando mutaciones directas de resistencia a L-arabinosa en estirpes de *E. coli* portadoras de la mutación *araD81*. Dicha mutación se combinó con una deficiencia en el gen *fpg*, que codifica la 8-OH-G glicosilasa. La deficiencia en 8-OH-G glicosilasa multiplicó por 2,5 la mutagenicidad de 4NQO (e.g. 4051 vs. 1640 Mutantes Ara<sup>R</sup>/caja a la dosis de 50 nmoles), sin afectar a la letalidad de dicho agente. Dicho efecto no se observó en un fondo genético deficiente en el mecanismo fiel de reparación por escisión (estirpes *uvrA*<sup>-</sup>). Estos resultados se interpretan en el sentido de que la 8-OH-G, sustrato de la 8-OH-G glicosilasa, no tiene efecto letal ni es susceptible de reparación por el sistema fiel de reparación por escisión. La letalidad de la 4NQO y su mutagenicidad en un fondo *uvr*<sup>-</sup> se atribuiría al aducto 3-(deoxiguanosin-N2-il)-4-aminoquinolina 1-óxido (dGuo-N2-AQO), el aducto más abundante inducido in vivo por la 4NQO. El papel de la 8-OH-G glicosilasa sobre la genotoxicidad de la 4NQO se confirmó con estirpes portadoras de un plásmido sobreproductor de dicha actividad.

La 8-OH-G es una lesión que aparece erróneamente con la adenina provocando la inducción de transversiones GC-->TA. El efecto de la 8-OH-G glicosilasa sobre la inducción de transversiones GC-->TA por 4NQO se ha estudiado en estirpes de *E. coli* que detectan específicamente dicho cambio. La deficiencia en 8-OH-G glicosilasa multiplicó por 8 la inducción por 4NQO de este específico cambio mutagénico. Los resultados de este trabajo apoyan la idea de que la 8-OH-G desempeña un papel en la genotoxicidad de la 4NQO. Es de resaltar la importancia de esta lesión en un fondo genético silvestre (capaz de llevar a cabo la reparación fiel por escisión).

## APLICACION DEL GEN *supF* COMO BLANCO GENETICO PARA ESTUDIOS COMPARATIVOS DE ESPECIFICIDAD MUTAGENICA EN BACTERIAS

Roldán-Arjona, T., Ariza, R.R., Ferrezuelo, F., López-Luque, F., Hera, C. y Pueyo, C.

Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. 14071-CORDOBA

El patrón de cambios genéticos inducidos por cualquier agente genotóxico se denomina espectro mutacional. La determinación de los espectros mutacionales se ha convertido en una valiosa herramienta para el estudio de los mecanismos de mutación, reparación del ADN, relación estructura-función de las proteínas y causas medioambientales de las mutaciones puntuales en poblaciones humanas.

La mayor parte de los estudios sobre especificidad mutacional utilizan blancos genéticos conocidos, insertos en plásmidos. El vector lanzadera pSVPC7, derivado del virus SV40, contiene el gen bacteriano *supF* que codifica un pequeño ARNt supresor de ambar. A partir del vector pSVPC7 se ha desarrollado un sistema que permite la detección de mutaciones directas en el gen *supF*. El método se basa en la obtención de un mutante doble *araam araD* de *Escherichia coli*. Dicho mutante es sensible a L-arabinosa en presencia del gen silvestre *supF* pero resistente cuando dicho gen se inactiva por mutación.

Con este sistema se han estudiado los espectros mutacionales de distintos agentes alquilantes, en estirpes bacterianas silvestres y estirpes con deficiencias en actividad alquiltransferasa II. Dicho estudio se ha llevado a cabo desde dos aproximaciones diferentes: 1) Tratamiento *in vitro* del vector pSVPC7 y posterior transformación de las estirpes y 2) Mutagénesis *in vivo* de las estirpes bacterianas, portadoras del vector. Así, se pretende estudiar la forma en que diferentes tipos y niveles de procesamiento de las lesiones afectan al espectro de mutaciones inducidas por un agente genotóxico.

## 5

### INFLUENCIA DEL FONDO GENETICO EN EL TEST SMAR w/w+

Aguirrezabalaga, I., Ruiz de Azua, I. y Comendador M.A.

Area de Genética. Departamento de Biología Funcional. Universidad de Oviedo.

Un test de genotoxicidad supone la utilización de líneas genéticamente homogéneas puesto que de ello depende la reproducibilidad y la posibilidad de comparación de resultados. La obtención de estas líneas, especialmente en el caso de *Drosophila*, lleva a forzar la homocigosis, generalmente mediante endogamia y, consecuentemente, a la consecución de líneas que pueden diferir radicalmente en su fondo genético y, por lo tanto, diferenciarse en su capacidad de activación metabólica y detoxificación.

Hexametilfosforamida (HMPA), es un agente alquilante bifuncional que requiere activación metabólica previa a su interacción con el DNA. Se ha cuantificado la inducción de mosaicos de ojo w/w+ con diferentes dosis de HMPA en tres líneas de *D. melanogaster* resistentes a insecticidas (91R, Hikone R y Haag 79) y tres líneas no resistentes (91C, Oregón K y Berlín K). La relación dosis-respuesta fue óptima en las líneas Oregon K y 91C, intermedia para Haag 79 y 91R y deficiente en el caso de Berlín K e Hikone R.

Nuestros resultados y los de otros autores nos permiten concluir que la eficacia del test SMAR w/w+ depende ampliamente del fondo genético de la línea utilizada. La elección de la línea depende del compuesto concreto que se pretenda evaluar, aunque los datos obtenidos con varias clases de mutágenos parecen indicar un cierto consenso a favor de la línea Oregón K.

6

**ANALISIS DE 4 PLAGUICIDAS MEDIANTE EL TEST S.M.A.R.T. EN ALAS DE *Drosophila melanogaster*.**

Osaba, L., Aguirre, A. y \*Alonso, A.

Dpto. de Biología Animal y Genética. Fac. de Ciencias. UPV/EHU.  
\*Departamento de Genética. Universidad de Córdoba.

El test de mutación y recombinación somáticas en alas de *Drosophila melanogaster* ha sido descrito como un ensayo de genotoxicidad de gran sensibilidad y precisión, con diversas ventajas frente a otros ensayos más frecuentemente utilizados.

El objetivo de nuestro trabajo es determinar la fiabilidad de este ensayo y contribuir a su posible validación, aportando nuevos datos de una serie de compuestos.

En este caso, presentamos los resultados obtenidos al analizar 4 plaguicidas, dos herbicidas (amitrol y profam) y dos insecticidas (dieldrín y dimetoato), realizando tratamientos crónicos con larvas transheterocigotas *mwh/flr<sup>3</sup>* de 72 horas.

Nuestros resultados indican que el amitrol presenta actividad genotóxica cuando se analiza mediante el test SMART, mientras que profam, dieldrín y dimetoato arrojan resultados negativos.

**MEDIDA DE LA PERSISTENCIA DE LESIONES EN EL DNA CAUSADAS POR MUTAGENOS QUIMICOS EN CELULAS DE MAMIFEROS.**

Cortés, F., Escalza, P., Piñero, J., Daza, P. y Mateos, S.

Dpto Biología Celular. Facultad de Biología. 41012 Sevilla.

En el presente trabajo hemos analizado, en células CHO y linfocitos humanos, si las lesiones en el DNA que dan lugar a la formación de Intercambios entre cromátidas hermanas (SCEs) son reparadas en el primer periodo S después de haber sido tratadas o, si por el contrario estas lesiones permanecen sin ser reparadas durante sucesivos ciclos celulares. Los mutágenos utilizados fueron: 4-Nitroquinolina-1-oxido (4NQO), un agente UV mimético; Mitomicina C (MMC), agente alquilante bifuncional; y Etil metanosulfonato (EMS), agente alquilante monofuncional. En todos los casos los tratamientos mutagénicos se realizaron, a diferentes concentraciones, durante una hora, inmediatamente antes de comenzar la bromosustitución, y se siguió la frecuencia de SCEs durante tres ciclos celulares consecutivos.

Para conocer si la inducción de SCEs se mantiene o no a lo largo del tiempo, se hace imprescindible conocer la producción de SCEs por generación. Para ello, hemos analizado metafases de la tercera generación tenidos diferencialmente en tres colores, mediante la técnica TWD (three way differentiation) estandarizada recientemente en nuestro laboratorio.

En células CHO, nuestros resultados mostraron que existen diferencias en cuanto a la persistencia de las lesiones que inducen intercambios. Las lesiones inducidas por EMS mostraron ser más persistentes que las inducidas por MMC. Sin embargo, el daño provocado por 4NQO parece ser reparado eficazmente en la primera ronda de replicación después del tratamiento con la droga. Contrariamente, en linfocitos humanos PHA estimulados todas ellas parecen persistir durante al menos tres ciclos celulares, ya que se mantiene incrementada la frecuencia de SCEs, con respecto a los controles, durante las tres generaciones consecutivas al tratamiento.

## 8

### **EVALUACION GENOTOXICA DE LOS INSECTICIDAS PIRETROIDES DELTAMETRIN Y FENVALERATO UTILIZANDO CULTIVOS CELULARES *in vitro* DE CELULAS DE OVARIO DE HAMSTER CHINO.**

Caballo, C., Barrueco, C., \*Herrera, A., Santa María, A., Sanz, F. y \*de la Peña, E.

Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda (Madrid).

\* Centro de Ciencias Medioambientales. CSIC. Madrid.

Se realiza el estudio genotóxico de los insecticidas deltametrín y fenvalerato utilizando como organismo indicador células CHO y como sistema de activación metabólica el sobrenadante de la fracción postmitocondrial de hígado de rata (S9).

Se evalúa el daño genético producido empleando los métodos siguientes: 1) detección de la inducción de daño cromosómico mediante el ensayo de Aberraciones Cromosómicas estructurales (AC); 2) detección de la inducción de lesiones primarias en el DNA, mediante el ensayo de intercambio de cromátidas hermanas (SCE) y 3) detección de la inducción de mutación génica mediante el ensayo de resistencia a la 6-tioguanina.

De los resultados obtenidos se observa que tanto el deltametrín como el fenvalerato inducen efecto clastogénico en presencia de sistema de activación metabólica; inducen igualmente daño al DNA en el ensayo de SCE y tanto en presencia como en ausencia de S9-mix, y asimismo muestran una débil mutación puntual en el ensayo de resistencia a la 6-tioguanina.

Se concluye indicando la capacidad de las células CHO para detectar los diferentes daños genéticos inducidos por los piretroides estudiados.

9

**CARACTERIZACION DEL ENSAYO DE INTER-CAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS EN LA ESPECIE BOVINA.**

Catalán, J., \*Moreno, C. y Arruga, MV.

Laboratorio de Citogenética y \*Sección de Mejora Animal. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza

La técnica del intercambio de cromátidas hermanas se utiliza ampliamente como ensayo mutagénico en la especie humana. Sin embargo, son escasos los trabajos que en este sentido existen en los animales domésticos. Su aplicación en estas especies permitiría estudiar el efecto de productos utilizados en producción animal al tiempo que actuarían como control de alerta frente a exposiciones ambientales. A este efecto, se ha procedido a caracterizar los valores basales de intercambios en la especie bovina al tiempo que se estudian las posibles fuentes de variabilidad. A partir de 34 individuos de ambos sexos, pertenecientes a 4 diferentes razas y ubicados en 3 diferentes explotaciones, se realizan cultivos lintocitarios de 72 h. En la población analizada, la frecuencia media de SCEs es de  $5.77 \pm 0.082$  SCE/cél. con 5  $\mu\text{g/ml}$ . de BrdU. Entre las fuentes de variabilidad investigadas, existe un efecto significativo de la concentración de BrdU, el individuo, la raza y un conjunto de influencias de origen desconocido que se engloban dentro del factor bloque. Por el contrario, el sexo no muestra efecto significativo.



**EFECTO DE LA CONCENTRACION DE CITOCALASINA-B SOBRE LA FRECUENCIA DE MICRONUCLEOS EN CULTIVOS DE LINFOCITOS HUMANOS.**

Surrallés, J., Carbonell, E., Umbert, G., Xamena, N., Creus, A. y Marcos, R.

Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

Con la finalidad de estandarizar un protocolo para la realización del ensayo de micronúcleos en cultivos de linfocitos humanos, utilizando la técnica de bloqueo de la citocinesis mediante Citocalasina-B (Cit-B), se ha procedido a analizar el papel que juegan distintas variables y, en particular, el papel que tiene la concentración de Cit-B, sobre la frecuencia de micronúcleos y sobre el porcentaje de células binucleadas.

Se ha puesto a punto una metodología que elimina totalmente los eritrocitos, mantiene la integridad del citoplasma, muestra un buen contraste entre citoplasma y núcleos, y permite una nítida detección de los micronúcleos. Además, esta metodología es altamente repetible dentro del mismo laboratorio y entre laboratorios.

Respecto al papel que juega la concentración de Cit-B, se han utilizado dos concentraciones (3 y 6  $\mu\text{g/ml}$ ) y se ha determinado la frecuencia espontánea de micronúcleos en una muestra de 10 individuos. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la concentración de 6  $\mu\text{g/ml}$  es mucho más eficaz en el bloqueo de la citocinesis y, a la vez, induce una frecuencia de micronúcleos significativamente menor.

# 11

## **ACTIVIDAD MUTAGENICA DE MATERIAL PARTICULADO ATMOSFERICO: CONTRIBUCION DE LOS COMPUESTOS NITRODERIVADOS.**

Casellas, M., \*Fernández, P., \*Bayona, J.M. y Solanas, A. M.

Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona

\* Departamento de Química Orgánica Ambiental. CID, CSIC. Barcelona

De la gran diversidad de especies químicas presentes en las atmosferas urbanas, un 90% pertenecen a especies orgánicas que se encuentran mayoritariamente adsorbidas en la materia particulada.

Se ha estudiado la actividad mutagénica, mediante el test de Salmonella typhimurium, de la materia particulada recogida en una zona de la ciudad de Barcelona afectada por un intenso tráfico.

El extracto orgánico total, del material particulado recogido durante tres semanas de otoño, presenta una actividad mutagénica de 37 y 109 revertientes/m<sup>3</sup> con la cepa TA-98, con y sin activación metabólica respectivamente.

Para profundizar en la identificación de los compuestos responsables de esta elevada mutagenicidad y analizar la contribución de los nitroderivados a la misma se ha optado por un ensayo biodirigido, basado en el acoplamiento del test de Ames (cepas TA-98, TA-98NR y TA-98/1,8DNP) con fraccionamientos químicos (GPC y HPLC) de los extractos orgánicos totales. Los resultados obtenidos con la cepa standard (TA-98) y sus derivada nitroreductasas deficientes (TA-98NR y TA-98/1,8DNP) nos muestran una reducción de la actividad mutagénica, superior al 72% en todas las fracciones, a excepción de la fracción 2 correspondiente mayoritariamente a Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y en la que se observa una reducción del 36% con la cepa TA-98NR y de un 21% con la TA-98/1,8DNP.

Estos resultados plantean la importante contribución de los compuestos nitroderivados en la actividad mutagénica total de la materia particulada atmosférica.

## **RESPUESTA ADAPTATIVA AL DAÑO OXIDATIVO EN LINFOCITOS HUMANOS.**

Escalza, P., Domínguez, I., Panneerselvam, N. y Cortés, F.

Dpto. Biología Celular. Facultad de Biología. 41012 Sevilla.

La llamada respuesta adaptativa (AR) es un fenómeno por el cual las células desarrollan una mayor resistencia al daño cromosómico provocado por agentes mutagénicos, físicos o químicos, si previamente han sido expuestas a bajas dosis (tratamiento condicionante) de esos agentes que dañan el DNA. La existencia de AR en bacterias fue demostrada claramente en la década de los 70 por Samson y Cairns. Nuestra atención se ha centrado en la posible existencia de un mecanismo protector similar en células humanas. Para este estudio hemos empleado el método de la citocalasina B (Cyt B) que bloquea la citocinesis de las células tratadas y permite marcar la población afectada como células binucleadas para su inequívoco reconocimiento.

Linfocitos humanos procedentes de dos donantes fueron condicionados con bajas dosis de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), más tarde irradiadas con dosis de 1.5 o 3.0 Gy de rayos-X y dejadas recuperar en Cyt B durante diferentes períodos de tiempo. Hemos encontrado evidencias de la existencia tal efecto protector frente al daño oxidativo en células pre-expuestas a  $H_2O_2$ , detectado como micronúcleos (MN) en células binucleadas. Para los experimentos con 1.5 Gy de rayos-X hubo una reducción significativa en la frecuencia de MN observados en células condicionadas en relación con las que sólo habían recibido las dosis de rayos-X, a las 12 y 20 h de recuperación en Cyt B para los donantes A y B respectivamente. Sin embargo, las células irradiadas con 3.0 Gy mostraron AR pero más tarde que en el caso de la dosis más baja de rayos-X. También en este caso observamos diferencias entre donantes, pues el donante B parece mostrar una AR más clara a largos períodos de recuperación (30 h) que el donante A (20 h) (tablas I y II).

**GENOTOXICIDAD DE TRES HERBICIDAS EN CULTIVOS DE LINFOCITOS HUMANOS**

Ribas, G., Surrallés, J., Umbert, G., Carbonell, E., Xamena, N., Creus, A. y Marcos, R.

Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

Continuando nuestros estudios sobre la genotoxicidad de los herbicidas alacloro, hidrazida maleica y paracuat, presentamos aquí los resultados obtenidos en cultivos de linfocitos humanos analizando la capacidad de los tres herbicidas para inducir diferentes tipos de daño genético: intercambios entre cromátidas hermanas, aberraciones cromosómicas y micronúcleos.

Los experimentos se han llevado a cabo con muestras de sangre de dos donantes sanos, estudiando para cada herbicida cuatro concentraciones. Asimismo se han realizado dos controles concurrentes, uno positivo y otro negativo.

Los resultados obtenidos indican lo siguiente:

- a) La hidrazida maleica ha mostrado ser un potente agente mutagénico, induciendo incrementos significativos en las frecuencias de los tres tipos de alteraciones estudiadas, y confirmando resultados previos obtenidos con otros sistemas.
- b) El paracuat induce incrementos significativos en las frecuencias de intercambios y de aberraciones, si bien los resultados obtenidos en el ensayo de micronúcleos no son concluyentes.
- c) El alacloro también ha demostrado ser un agente con potencialidad genotóxica, dando resultados positivos en los tres ensayos utilizados.

## GLUTATION REDUCIDO ERITROCITARIO Y MUTAGENICIDAD URINARIA EN NIÑOS TRATADOS CON PARACETAMOL

Bernal ML., Sinués B., \*Mayayo E. y Lanuza J.

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina. \*Pediatria, Hospital Miguel Servet. Zaragoza.

En el presente estudio se ha pretendido evaluar el impacto que dosis terapéuticas de paracetamol pueden ejercer sobre GSH, TU y mutágenos como indicadores de exposición interna a electrofílicos, así como establecer la asociación entre estos parámetros. La muestra ha consistido en un grupo de 40 niños de los que se obtuvieron dos muestras, una de sangre y otra de orina con y sin tratamiento con paracetamol. El grupo total se ha subdividido en tres subgrupos conforme a la edad, subgrupo I (de 9 a 18 meses), subgrupo II (de 19 a 72 meses) y subgrupo III (de 73 a 132 meses).

En las muestras de sangre se han determinado las concentraciones de GSH. Los resultados han mostrado que tras el tratamiento con paracetamol ( $3,57 \pm 0.86$  días) se ha producido elevación del GSH en el grupo total ( $Z = -2.23$ ,  $p < 0.05$ ) debido, principalmente, al incremento observado en el subgrupo de niños de menor edad ( $t = -2.43$ ,  $p < 0.05$ ). En las muestras de orina se ha determinado la concentración de tioéteres y la formación de mutágenos (sin y con activación microsomal S9). Los TU no han mostrado elevación tras el tratamiento excepto en el subgrupo III ( $Z = -2.40$ ,  $p < 0.05$ ). Tampoco los índices mutagénico y premutagénico han resultado aumentados tras el tratamiento ( $z = -1.26$ ,  $p > 0.05$  y  $z = -0.88$ ,  $p > 0.05$  respectivamente). Sólo en el subgrupo III el índice premutagénico ha mostrado aumento estadísticamente significativo ( $z = -3.08$ ,  $p < 0.05$ ). Ha existido asociación significativa y positiva ( $r = 0.52$ ) entre los valores de GSH y TU. Los índices mutagénico y premutagénico han presentado asociación positiva antes del tratamiento  $r = 0.51$  que se perdió tras la administración del mismo  $r = -0.07$ .

**BIOMARCADORES CITOGENETICOS DE EXPOSICION A MUTAGENOS Y HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN PACIENTES DIABETICOS INSULIN-DEPENDIENTES**

Sáenz MA.,\*Barra A., \*Jimenez A., Bernal ML., Lanuza J., Bartolomé M. y Sinués B.

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina. \*Endocrinología, Hospital Clínico Universitario. Zaragoza.

La diabetes mellitus constituye un importante problema de salud pública. La asociación entre diabetes y cáncer se ha investigado por medio de estudios epidemiológicos y de experimentación animal. Existen datos que avalan un superior riesgo neoplásico entre la población diabética. En el presente estudio se evalúan posibles modificaciones citogenéticas, como marcadores de exposición interna a mutágenos/carcinógenos. En cultivos de linfocitos se ha determinado la frecuencia de intercambios de cromátides hermanas (SCE), las aberraciones cromosómicas (CA) y el índice de proliferación celular (PRI).

Se han establecido dos grupos: el grupo I, de voluntarios sanos (n=31) y el grupo II de 31 pacientes diabéticos, está subdividido en dos subgrupos: IIA de debutantes (n:11) y IIB de pacientes recibiendo hipoglucemiantes orales (n:20). Tanto las SCE como las CA han resultado estar más elevadas en pacientes que en controles ( $p<0.05$  y  $p<0.001$ , respectivamente), mientras que el PRI no se modifica. Las alteraciones citogenéticas han sido más pronunciadas en los pacientes debutantes. Las correlaciones entre hemoglobina glicosilada y biomarcadores citogenéticos (SCE  $r=0.81$ , PRI  $r=-0.67$ , CA  $r=0.56$ ) sugieren que la glicosilación no enzimática está involucrada en el mecanismo de genotoxicidad.

**ESTUDIO CITOGENETICO EN PACIENTES  
ASMATICOS EN TRATAMIENTO CONTINUO CON  
TEOFILINA Y OTROS ANTIASMATICOS.**

Sinués B.,\*Broto A., \*\*Suarez MA., Bernal ML., Lanuza J. ,  
Sáenz MA., \*\*\*Duce F.

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina. \*Servicio de Urgencias,  
\*\*UCI y \*\*\*Servicio de alergias del Hospital Clínico Universitario. Zaragoza.

Los posibles efectos citogenéticos de teofilina han sido investigados en pacientes asmáticos sometidos a terapia continuada con este fármaco.

Se han evaluado: intercambios entre cromátides hermanas (SCE), aberaciones cromosómicas (CA) e índice de proliferación celular (PRI) en cultivos de linfocitos de sangre periférica de pacientes que recibían únicamente teofilina (n=12), teofilina más un fármaco  $\beta_2$  adrenérgico inhalatorio (n=7), o teofilina en combinación con un agente  $\beta_2$  adrenérgico y corticoides(n=11).

Se obtuvieron dos muestras de cada individuo para el estudio prospectivo: antes de iniciar tratamiento con teofilina (muestra A), y un tiempo después de su comienzo (muestra B). Después del tratamiento ( $66.3 \pm 37.8$  días), se observó un aumento de los SCE, que no fue acompañado de modificaciones en el PRI ni en las CA.

Los pacientes que recibieron  $\beta_2$  adrenérgicos o  $\beta_2$  adrenérgicos más glucocorticoides, antes o durante el tratamiento con teofilina, no respondieron de forma diferente a los tratados únicamente con teofilina.

**BIOMONITORIZACION DE LA EXPOSICION AMBIENTAL Y LABORAL A ARILAMINAS Y SU RELACION CON EL POLIMORFISMO DE N-ACETILACION.**

Sinués B., Perez J., Sáenz MA., Lanuza J., \*Tres A. y Bartolomé M.

Departamento de Farmacología, Facultad de medicina. \*Oncología, Hospital Clínico Universitario. Zaragoza.

Algunas aminas aromáticas se comportan como carcinógenos. Existe una asociación entre exposición laboral a arilaminas y desarrollo de cáncer vesical, con una superior incidencia entre individuos acetiladores lentos de isoniacida. El tabaco, y en particular el tabaco negro, contiene arilaminas mutágenas.

En el presente trabajo, de epidemiología experimental, se ha pretendido establecer la influencia que ejercen: grado de exposición laboral, tabaquismo, tipo de tabaco y cantidad fumada, así como el polimorfismo de N-acetilación sobre la mutagenicidad urinaria como marcador de exposición interna.

De los tres índices evaluados: índice mutagénico (IM), índice premutagénico (IPM) e índice mutagénico tras incubación con  $\beta$ -glucuronidasa (IM- $\beta$ -gluc), el IPM ha discriminado: tabaquismo, cantidad fumada y tipo de tabaco, sin verse afectada por el status acetilador. El IM- $\beta$ -gluc ha sido capaz de monitorizar la exposición laboral y la capacidad de N-acetilación, sin verse afectado por el hábito de fumar. Los tres indicadores han sido independientes entre sí y del resto de las variables.



## **VIABILIDAD DE LOS ENSAYOS DE MUTAGENESIS EN EL CONTROL DE CALIDAD DE LOS ALIMENTOS**

P. Moya Esteve; J. Salas Zapatero y R. Fernández Peiteado.

Centro de Investigación y Control de la Calidad. (I.N.C.) Ministerio de Sanidad y Consumo Avda. de Cantabria, s/n. MADRID (28042)

Tanto los procesos tecnológicos industriales, como los tratamientos culinarios "caseros" (hervidos, cocidos al horno, fritos, asados a la parrilla, etc.) pueden dar origen a la aparición de sustancias con posible acción mutagénica, por desnaturalización de las materias primas que componen los alimentos.

Estas sustancias pueden aparecer en un campo muy amplio de alimentos: carnes, zumos de frutas, patatas fritas, pan, productos lácteos, etc. Entre ellas podemos encontrar: indoles, imidazoles, quinolinas, furfurales, etc., pudiendo aparecer en los productos alimenticios junto con determinados contaminantes como plaguicidas, antibióticos o residuos de tratamientos incorrectos, como los utilizados en mejoras ganaderas, originando solas, o en conjunto, la actividad mutagénica. Este hecho ha sido comprobado y publicado por equipos técnico-científicos de referencia en el campo de la genotoxicidad alimentaria.

A la vista de este fenómeno, sería interesante validar los ensayos mutagénicos como: *Salmonella typhimurium*/his.(-) *E. Coli*/trip. (-), cultivos celulares, *Sacharomyces cerevisiae*, etc., homologados y asequibles a laboratorios de análisis bromatológicos y/o de productos alimentarios, ampliando de esta manera los ensayos en el seguimiento de estos productos como un factor más de medida en la seguridad de los mismos.

**ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS GENES *umuDC* Y *mucAB* EN LA MUTAGENESIS PRODUCIDA POR CIPROFLOXACINA EN *Salmonella typhimurium* Y *Escherichia coli*.**

Clerch, B., Rivera, E., Barbé, J. y Llagostera, M.

Departamento de Genética y Microbiología. Universidad Autónoma de Barcelona.

Estudios realizados por nuestro grupo demuestran que la fluoroquinolona ciprofloxacina produce un aumento significativo de reversión de la mutación *hisG428* en *Salmonella typhimurium* con el ensayo de Ames. Asimismo, se ha observado que la mutagenicidad de este compuesto depende de la presencia del plásmido pKM101 y no de los propios genes *umuDC* de *S. typhimurium*, recientemente descritos. El plásmido pKM101 es portador de los genes *mucAB*, análogos a los genes *umuDC* de *E. coli* y *S. typhimurium* responsables del mecanismo de reparación tendente al error dependiente de SOS. Por otra parte, hasta el presente ningún grupo ha demostrado que las fluoroquinolonas sean mutagénicas en ensayos con *E. coli* a pesar de que estos compuestos son potentes inductores del sistema de reparación SOS.

El objetivo del presente trabajo ha sido el estudio del efecto de los genes *umuDC* y *mucAB* en la mutagenicidad de la ciprofloxacina en *S. typhimurium* y *E. coli*.

En primer lugar, se transformó con el plásmido pSE117 (portador de los genes *umuDC* de *E. coli*) la cepa de *S. typhimurium hisG428* cuya mutación *his* está localizada en el cromosoma. Los resultados fueron comparados con los obtenidos previamente con las cepas *hisG428* y *hisG428* / pKM101 en el test de Ames. Asimismo, se estudió el efecto de los genes *umuDC* en la reversión de la mutación *hisG428* localizada en el plásmido multicopia pAQ1 (cepa TA2661). Para ello, la cepa TA2661 fue transformada con el plásmido pUA185 que contiene los genes *umuDC* de *E. coli*. Los resultados obtenidos con ciprofloxacina fueron comparados con los de la cepa isogénica portadora del plásmido pKM101.

En segundo lugar, y en este mismo sentido, el plásmido pKM101 fue introducido mediante conjugación en la cepa de *E. coli* AB1157 (*umuDC*<sup>+</sup>) con el fin de estudiar paralelamente la reversión de la mutación *his* en las cepas AB1157 y AB1157/pKM101 inducida por ciprofloxacina.

Los resultados obtenidos parecen indicar que el aumento de la reversión de la mutación *his* inducida por ciprofloxacina en ambas especies depende de la presencia de los genes *mucAB* del plásmido pKM101. Por el contrario, los genes *umuDC* no tienen un efecto significativo en la mutagenicidad del citado compuesto. Estos datos estarían de acuerdo con los publicados por otros grupos que muestran ciertas diferencias entre las características de las proteínas MucA y UmuD en la mutagénesis dependiente de SOS, a pesar de ser funcional y estructuralmente similares.

## MUTAGENICIDAD DE MMS, EMS Y HMPA EN LA LINEA *WHITE-IVORY* DE *DROSOPHILA*.

Ferreiro, J. A., Consuegra, S., Sierra, L.M. y Comendador, M.A.

Departamento de Biología Funcional. Area de Genética. Universidad de Oviedo.

El ensayo *white-ivory* ( $w^i$ ) de *Drosophila*, desarrollado por Green y colaboradores en 1986, ha sido sugerido como una posible alternativa en la detección de genotóxicos. Lo peculiar de este ensayo es la posibilidad de detección de reversión del gen  $w^i$  (una duplicación en tandem de un fragmento de 2.9 Kb) a  $w^+$ . Aunque no se conoce cual es el mecanismo de reversión, la mayor parte de las sugerencias señalan que ocurre mediante recombinación intracromosómica.

Nuestro grupo está interesado en utilizar este sistema para comprobar la hipótesis de Schiestl (1989) acerca del papel recombinogénico de los carcinógenos no genotóxicos. Como un paso previo de este trabajo se ha procedido, con vistas a su validación, al ensayo de tres genotóxicos bien conocidos (EMS, MMS y HMPA). Se presentan los resultados obtenidos y se discuten algunas peculiaridades de estos resultados.

**EFFECTOS DE DIEZ CARCINOGENOS EN EL ENSAYO DE MUTACION SOMATICA white-ivory EN *Drosophila*.**

Batiste-Alentorn, M., Xamena, N., Creus, A. y Marcos, R.

Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

En estos últimos años hemos venido trabajando en la utilización de diferentes sistemas genéticos para la detección de mutación y recombinación en células somáticas de *Drosophila melanogaster*.

El ensayo *white-ivory* fue diseñado para detectar la reversión inducida por agentes mutagénicos. La reversión del alelo *white-ivory* se manifiesta por la aparición de clones de omatidios de color rojo (fenotipo salvaje) en ojos de color naranja claro.

En esta comunicación presentamos los resultados obtenidos con el ensayo que utiliza una cepa portadora del alelo *white-ivory* tetraplicado [(W<sup>i</sup>)<sub>4</sub>], al evaluar la genotoxicidad de diez agentes carcinogénicos: acetamida (AA), acrilamida (ACA), benzo- $\alpha$ -pireno (BP), ciclofosfamida (CP), dietilestilbestrol (DES), 4-nitroquinolina-N-óxido (NQO), o-toluidina (TOL), propileneimina (PI), safrole (SAF) y tiourea (TIO).

Los machos de la cepa [(W<sup>i</sup>)<sub>4</sub>] son y<sup>2</sup> w<sup>i</sup> [dp (1:1:1:1) w<sup>i</sup>]/ Y, que se mantienen con hembras portadoras de cromosomas X unidos (C(1) DX; y f). Se sembraron larvas de 48 horas de edad en frascos de cultivo a los que se había añadido diversas concentraciones de cada uno de los carcinógenos.

Las larvas continuaron su desarrollo en dichos frascos hasta la emergencia de los adultos (tratamiento crónico).

Nuestros resultados indican que de los 10 carcinógenos ensayados en el sistema somático [(W<sup>i</sup>)<sub>4</sub>], 6 de ellos (ACA, CP, DES, NQO, PI y SAF) inducen un incremento significativo de la frecuencia de reversión, con la consiguiente aparición de sectores de color rojo, mientras que los 4 restantes (AA, BP, TIO y TOL) no son capaces de incrementar dicha frecuencia.

**UTILIZACION DE MUTANTES WHITE DE DROSOPHILA, PORTADORES DE RETRO-TRANSPOSONES, EN LA DETECCION DE MUTAGENICIDAD EN CELULAS SOMATICAS.**

Soriano, S., Xamena, N., Creus, A. y Marcos, R.

Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

Los ensayos de mutación somática en *Drosophila* son considerados actualmente como alternativas válidas a los ensayos germinales, habiéndose utilizado algunas cepas mutantes del locus *white*, debido a la facilidad para detectar sectores mutantes y/o salvajes para el color del ojo.

En esta comunicación se presentan los resultados obtenidos con tres cepas portadoras de diferentes retrotransposones del tipo *copialike*: (a) *wa*<sup>4</sup> (*white-apricot 4*), (b) *w*<sup>bf</sup> (*white-buff*) y (c) *w*<sup>SP55</sup> (*whitespotted 55*), junto con los obtenidos con la cepa *wa*<sup>2</sup> (*white-apricot 2*), portadora de una mutación puntual.

Se ha evaluado la respuesta de las cuatro cepas frente a la acción de tres conocidos agentes alquilantes: EMS, ENU y MMS, analizando la reversión de los fenotipos mutantes mediante la detección de clones de fenotipo salvaje en los ojos de individuos adultos, previamente expuestos al mutágeno en fase larvaria.

Nuestros resultados indican que, al utilizar las cepas con retrotransposones, los tres agentes alquilantes inducen una clara respuesta, en comparación con la encontrada en la cepa portadora de la mutación puntual. Cabe señalar que la cepa *w*<sup>SP55</sup>, que lleva el elemento inserto en la región reguladora del locus *white*, es la que muestra una mayor sensibilidad a los efectos genotóxicos de los tres agentes alquilantes utilizados.

**MUTAGENICIDAD DE LA ACROLEINA EN LINEAS mus(2)201 Y mus(3)308 DE Drosophila melanogaster.**

Barros, A R., Apesteguía, A., Sierra L.M. y Comendador M.A.

Departamento de Biología Funcional. Area de Genética. Universidad de Oviedo.

Los carbonos 1 y 3 de la acroleina presentan propiedades electrofílicas que la convierten en un agente con capacidad potencial para actuar simultáneamente sobre dos posiciones nucleofílicas. De hecho, está descrita la formación de lesiones cíclicas así como de enlaces cruzados inducidos por acroleina. La diferencia entre ambos tipos de daños estriba en que en el primer caso la acroleina se comporta como un agente monofuncional mientras que en el segundo lo hace como bifuncional.

En este trabajo hemos intentado determinar si alguno de estos mecanismos es el responsable de la mutagenicidad que la acroleina induce en D. melanogaster, a través de los índices de hipermutabilidad en dos condiciones distintas de reparación. Para ello se han realizado experimentos de letales recesivos ligados al sexo en condiciones de reparación por excisión normal y deficiente (mus(2)201) y en condiciones de reparación de enlaces cruzados normal y deficiente (mus(3)308).

Los resultados obtenidos muestran que existe hipermutabilidad para la línea mus(2)201, pero no para la línea mus(3)308. Esto pone de manifiesto que una parte importante de las lesiones premutagénicas inducidas por la acroleina se reparan por excisión. Además confirman que este compuesto actúa principalmente en D. melanogaster como un agente monofuncional.

## LISTADO DE PARTICIPANTES Y ASISTENTES

<u>Aguirre, A.</u>	6
<u>Aguirrezabalaga, I.</u>	2-5
<u>Alonso, A.</u>	6
<u>Apesteguía, A.</u>	23
<u>Ariza, RR.</u>	3-4
<u>Arruga, MV.</u>	9
<u>Barbé, J.</u>	19
<u>Barra, A.</u>	15
<u>Barros, AR.</u>	23
<u>Barrueco, C.</u>	8
<u>Bartolomé, M.</u>	15-17
<u>Batiste-Alentorn, M.</u>	21
<u>Bayona, JM.</u>	11
<u>Bernal, ML.</u>	14-15-16
<u>Boyse, J.</u>	1
<u>Broto, A.</u>	16
<u>Caballo, C.</u>	8
<u>Carbonell, E.</u>	10-13
<u>Casellas, M.</u>	11
<u>Catalán, J.</u>	9
<u>Clerch, B.</u>	19
<u>Comendador, MA.</u>	2-5-20-23
<u>Consuegra, S</u>	20
<u>Cortés, F.</u>	7-12-21
<u>Creus, A.</u>	10-13-22
<u>Daza, P.</u>	7
<u>De la Peña, E.</u>	8
<u>Domínguez, I.</u>	12
<u>Duce, F.</u>	16
<u>Escalza, P.</u>	7-12
<u>Fernández Peiteado, R.</u>	18
<u>Fernández, P.</u>	11

<u>Ferreiro, JA.</u>	20
<u>Ferrezuelo, F.</u>	4
<u>García, E.</u>	
<u>Hera, C.</u>	4
<u>Herrera, A.</u>	8
<u>Iturbe, P.</u>	
<u>Jiménez, A</u>	15
<u>Lanuza, J.</u>	14-15-16-17
<u>Lopez-Luque, F.</u>	4
<u>López de Ceraín, A.</u>	
<u>Llagostera, M.</u>	19
<u>Marcos, R.</u>	10-13-21-22
<u>Martínez-López, A.</u>	
<u>Mateos, S.</u>	7
<u>Mayayo, E.</u>	14
<u>Moreno, C.</u>	9
<u>Moustacchi, E.</u>	1
<u>Moya, P.</u>	18
<u>Nehring, RG.</u>	
<u>Nivard, M.</u>	2
<u>Osaba, L.</u>	6
<u>Panneerselvam, N.</u>	12
<u>Papadopoulo, D.</u>	1
<u>Pardo, GA.</u>	
<u>Perez, J.</u>	17
<u>Piñero, J.</u>	7
<u>Pueyo, C.</u>	3-4
<u>Ribas, G.</u>	13
<u>Richard, P.</u>	1
<u>Rivera, E.</u>	19
<u>Roldán-Arjona, T.</u>	4
<u>Ruiz de Azua, I.</u>	5



<u>Ruiz-Laguna, J.</u>	<u>3</u>
<u>Sáenz, MA.</u>	<u>15-16-17</u>
<u>Sala-Trepat, M.</u>	<u>1</u>
<u>Salas, J.</u>	<u>18</u>
<u>Santa María, A.</u>	<u>8</u>
<u>Sanz, F.</u>	<u>8</u>
<u>Sierra, LM.</u>	<u>20-23</u>
<u>Sinués, B.</u>	<u>14-15-16-17</u>
<u>Solanas, AM.</u>	<u>11</u>
<u>Soriano, S.</u>	<u>22</u>
<u>Suarez, MA.</u>	<u>16</u>
<u>Surrallés, J.</u>	<u>10-13</u>
<u>Torres, C.</u>	
<u>Tosal, L.</u>	
<u>Tres, A</u>	<u>17</u>
<u>Umbert, G.</u>	<u>10-13</u>
<u>Vogel, EW.</u>	<u>2</u>
<u>Xamena, N.</u>	<u>10-13-21-22</u>

**Ponentes:**

Moustacchi, E.

Marcos, R.

De la Peña, E.

