



**PRIMERA REUNIÓN CIENTÍFICA DE
LA SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE MUTAGÉNESIS AMBIENTAL**

**PRIMERA REUNIÓN CIENTÍFICA DE
LA SOCIETAT ESPANYOLA
DE MUTAGÈNESI AMBIENTAL**

Barcelona, 4-5 de maig de 1989

PROGRAMA
PRIMERA REUNION CIENTIFICA DE LA
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGENESIS AMBIENTAL

Barcelona, 4-5 de Mayo de 1989

PRIMERA REUNION CIENTIFICA DE LA
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGENESIS AMBIENTAL

Barcelona, 4-5 de Mayo de 1989

ORGANIZADO POR:

GRUPO DE MUTAGENESIS QUIMICA
DEPARTAMENTO DE GENETICA Y MICROBIOLOGIA
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA

R. MARCOS (coordinador)

M. BATISTE-ALENTORN

E. CARBONELL

A. CREUS

M. PUIG

N. XAMENA

PROGRAMA

PRIMERA REUNION CIENTIFICA DE LA
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGENESIS AMBIENTAL

Barcelona, 4-5 de Mayo de 1989

JUEVES, 4 DE MAYO

CONFERENCIA INAUGURAL

The importance of mitotic recombination in genetic toxicology.

F.E. WÜRLER

SESION 1. GENOTOXICIDAD EN PROCARIOTAS.

1. Estudios sobre la genotoxicidad de alimentos.

R.R.ARIZA, A.R.ARIZA, G.DORADO, M.A.SERRANO, E.ALEJANDRE-DURAN, J.JURADO, J.LOPEZ-BAREA, C.PUEYO.

2. Ensayos biodirigidos en la determinación e identificación de mutágenos en muestras ambientales complejas.

M.GRIFOLL, A.M.SOLANAS, P.FERNANDEZ, J.M. BAYONA.

3. Reparación por recombinación de las lesiones producidas por cisplatino en el DNA de E. coli.

M.PUEYO, F.SAMPEDRO, J.BONAL, J.BARBE, M.LLAGOSTERA.

4. Regulación de la expresión de los genes nrdAB y su inducibilidad por agentes genotóxicos.

I.GIBERT, J.SITJES, M.LLAGOSTERA, J.BARBE.

5. Estudios de activación metabólica por extractos de Zea mays

P.YSERN, J.SITJES, J.BARBE, M.LLAGOSTERA.

6. Estudio de la actividad citotóxica y mutagénica de piretroides.

A.HERRERA, C.CABALLO, A.SANTA MARIA, F.SANZ, E. DE LA PEÑA.

7. Estudio de los efectos mutagénicos de derivados de triazino indoles mediante los tests de Ames y de intercambio entre cromátidas hermanas.

A.LOPEZ DE CERAIN, E.GARCIA, A.GULLON.

SESION 2. GENOTOXICIDAD EN EUCARIOTAS. I.

8. Exposición esquemática de estudios toxicológicos llevados a cabo en la Sección de Toxicología Experimental y Mutagénesis.

M.BAREA, M.T.POLLASTRINI, M.C.RUBIO, L.DE LA FUENTE, J.SALAS, M.JOYANES.

9. Efecto genotóxico de grasas sometidas a procesos culinarios. Estudio de reversión en Saccharomyces cerevisiae.
M.JOYANES, A.L.MEDINA, J.SALAS.

10. Evaluación genotóxica de la acroleína.
A.R.BARROS, M.GARCIA, M.SIERRA, M.A.COMENDADOR.

11. Utilización del sistema genético inestable white-zeste de Drosophila melanogaster en la detección de mutágenos y carcinógenos.
M.BATISTE-ALENTORN, N.XAMENA, A.CREUS, R.MARCOS.

12. Evaluación de los efectos genotóxicos del agua tritiada mediante ensayos de detección de mutaciones somáticas en Drosophila.
N.XAMENA, A.VELAZQUEZ, A.CREUS, R.MARCOS.

13. Utilización de cultivos de células de peces en los ensayos alternativos de ecotoxicidad.
A.CASTAÑO, A.SANTA MARIA.

14. Alteraciones de los niveles de ATP como medida de citotoxicidad.
C.BECERRIL, A.SANTA MARIA.

15. Citotoxicidad de setas comestibles con diferentes S9.
C.CABALLO, A.SANTA MARIA, C.BECERRIL, A.CASTAÑO, F.SANZ.

VIERNES, 5 DE MAYO

SESION 3. GENOTOXICIDAD EN EUCARIOTAS. II.

16. Nuevas metodologías para valorar la persistencia de las lesiones cromosómicas inducidas por agentes mutagénicos.
F.CORTES, P.ESCALZA, J.PIÑERO, P.DAZA.

17. Detección del potencial clastogénico del fenvalerato mediante el ensayo de micronúcleos utilizando citocalasina B
M.PUIG, E.CARBONELL, N.XAMENA, A.CREUS, R.MARCOS.

18. Programa informático para el análisis estadístico de los datos recogidos en un ensayo de micronúcleos mediante una prueba de Kolmogorov-Smirnov.
F.VILLAMAYOR, A.ROMERO, A.SACRISTAN, J.A.ORTIZ.

19. Evaluación de la actividad genotóxica de plaguicidas en trabajadores agrícolas expuestos, mediante el análisis de intercambios entre cromátidas hermanas.

E.CARBONELL, M.PUIG, N.XAMENA, A.CREUS, R.MARCOS.

20. Dosimetría interna de la exposición al cloruro de vinilo por medio de la excreción de tioéteres urinarios.

M.IZQUIERDO, J.VAL, B.SINUES.

21. Posibles indicadores de riesgo neoplásico en individuos fumadores.

P.RUEDA, B.SINUES.

22. Consumo de heroína, infección por VIH y VHB: Estudio citogenético e inmuno-bioquímico.

M.P.COLOMA, C.LARRAZ, M.GUTIERREZ, B.SINUES.

23. Polimorfismo en acetilación y excreción de mutágenos en orina en una población expuesta a arilaminas.

J.PEREZ, A.SANZ, B.SINUES.

SESION 4. MECANISMOS DE MUTAGENESIS.

24. El metabolismo celular como modulador de la actividad genotóxica de agentes xenobióticos.

N.ABRIL, F.L.LUQUE-ROMERO, M.J.PRIETO, M.RUIZ-RUBIO, C.PUEYO.

25. Influencia de la topología del DNA sobre la mutagénesis.

M.BLANCO, V.ALEIXANDRE, A.URIOS, G.HERRERA.

26. Aislamiento y caracterización molecular de mutaciones químicamente inducidas en Drosophila melanogaster.

M.SIERRA.

MESA REDONDA. ESTADO ACTUAL Y PERSPECTIVAS DE LA TOXICOLOGIA GENETICA EN ESPAÑA.

Participantes:

A.PASCUAL (CICYT), C.MANRIQUE (representante CEE), M.BLANCO, F.CORTES, A.CREUS, E. DE LA PEÑA, C.PUEYO, J.SALAS, F.SANZ.

The importance of mitotic recombination in genetic toxicology

Friedrich E. Würgler, Institute of Toxicology, Swiss Federal Institute of Technology and University of Zürich, Schorenstrasse 16, CH-8603 Schwerzenbach near Zürich, Switzerland

For a long time gene mutations, clastogenic effects and aneuploidy were considered to be of primary importance in genetic toxicology. In recent years, in particular with respect to genotoxic effects in somatic cells, evidence accumulated that induced recombination of genetic material is of high importance too. Advance in this field resulted from the molecular studies of programmed recombination phenomena occurring during normal development and of incidental recombination in connection with DNA damage, the behaviour of mobile genetic elements, plasmids and viruses as well as natural and artificial immigrant DNA in eukaryotic cells.

The biologically significant recombination phenomena may result from two related phenomena: (i) Gene conversion, a non-reciprocal transfer of genetic information. The size of the DNA segments involved varies for different organisms: In mammalian cells conversion tract length is less than 350 base pairs and involves contiguous blocks of DNA; in *Saccharomyces cerevisiae* tract lengths larger than 10 kilobases have been observed during mitosis as well as meiosis. (ii) Reciprocal recombination, where (resulting from individual exchange events based on strand breaks equivalent to two double strand breaks) sections or terminal parts of DNA duplexes are recombined.

Among the genetically programmed recombination phenomena we find: (i) Gene transfer in bacteria: Transformation (uptake of naked DNA by bacterial cells), transduction (bacteriophages move bacterial DNA between cells), and conjugation (transfer of bacterial DNA between two cells in direct contact). With all three modes of gene transfer donor DNA with an origin of replication may form a circlet and become an autonomous replicon, otherwise it has to recombine with an already existing replicon in order to become stably inherited and possibly expressed. Based on studies in bacterial systems it was learned

that three types of recombinational events can occur: (1) General recombination: In *E. coli* this pathway is dependent on the Rec-A protein and the homologous recombination is influenced by mutations in more than 30 other genes. There appear to exist at least 5 different Rec-A dependent pathways: RecBCDm RecE, RexcF, RecX, and RecY. The RecBCD pathway suppresses the other pathways, it is stimulated by Chi sites and appears to require at least a transient double-strand break for the entry of the RecBCD enzym complex. A similar system appears to exist in mammalian cells since a Rec-A-like activity has been isolated from human and hamster cells. (2) Site specific recombination: Events of this class occur at highly preferred sites (on one or both molecules) and are independent of the proteins active in general recombination (example: integration of bacteriophage lambda). (3) Illegitimate recombination: All events not classified as general or site specific. Little or no requirement for homology, some preference for microhomology and palindromes possible, occurs usually at low frequencies. (ii) Mismatch repair. Based on studies in *Escherichia coli* and *Streptococcus pneumoniae* Radman (1988) proposed a hypothesis on mismatch repair in these systems and proposed to extend it to eukaryots. Long-patch mismatch repair (LPMR) conserves genetic information in the course of DNA replication and genetic recombination. Long excision-resynthesis tracts up to several kilobases are hallmarks of this methyl-directed mismatch repair correcting over 99% of spontaneous replication errors in *E. coli*. Very-short-patch mismatch repair (VSPMR) is highly specialized. The antirecombinogenic effect of LPMR and the hyperrecombination effect of VSPMR provide formal models for conservation, homogenization, and diversification of genes. (iii) Recombinational repair. This type of repair is involved in the gap filling in nascent DNA if DNA replication is stalled by damages in the template strand. (iv) Insertion sequences and invertible segments. These are specialized sequences which may change their position or orientation within the genome. Invertible segments are involved in phase variation in *Salmonella* and with insertions of bacteriophage Mu and P1 and the 2um plasmids in *Saccharomyces*. (v) Antigen variation a mechanism developed by African trypanosomes to escape the immune defence of their mammalian host is effected by telomeric recombination. (vi) Mating-type switching in yeast. Genes controlling mating-type are activated by nonreciprocal recombination from a position in the genome where they are repressed. (vii) In many fungi mitotic recombination and gene conversion occurs spontaneously at low frequency and is enhanced upon damaging DNA. (viii) Highly repeated sequences. Sequence homoge-

neity between highly repeated DNA sequences is thought to be maintained by mitotic recombination. (ix) Telomeres. Synthesis of telomeric repeats is connected with recombination phenomena as studied in Tetrahymena and other ciliates, trypanosomes and yeast. Tetrahymena seems to contain a telomerase (a DNA polymerase carrying its own template). (x) Recombination in multicellular higher eukaryotes. The processes leading to homologous recombination in meiosis and mitosis differ in some fundamental features. Mitotic recombination has been studied in *Drosophila* in vivo, in mammalian cells in vitro, and during the in vivo development of B- and T-cells. Gene rearrangements in the immunoglobulin genes and the T-cell receptor genes occur during maturation of B- and T-cells. In humans in vivo mitotic recombination has been observed in Bloom syndrome (cytologically and as a twin spot in the skin of a patient) and in certain tumor lines (Retinoblastoma etc.). In mammalian cells it has been found that for efficient homologous recombination homologous sequences of more than 300 basepairs are needed, but - and this is very important - recombination may also occur with less than 30 bases of homology. In addition mammalian cells are capable to perform illegitimate recombination leading to random integration of (foreign) DNA into chromosomes. In mammals the phenomenon of unequal crossing over has only been reported for the mouse, but it is well known in *Drosophila*.

For the toxicological considerations it is important to stress that - in contrast to the opinion held a few years ago - mitotic recombination appears to be a common phenomenon. Programmed events such as the recombination within immunoglobulin gene clusters occur in humans and somatic mammalian cells have been shown to have constitutively expressed genes engaged in DNA recombination. Mitotic recombination is one of the important mechanisms leading to loss of heterozygosity, a phenomenon often seen in human tumor cell lines. A new model for mitotic recombination in mammals is suggested which does not depend on extensive somatic pairing of chromosomes but on a recognition mechanism capable to initiate recombination over distances below 300 nm and in which recombination signals such as those used in rearranging immunoglobulin genes and repetitive sequences such as Alu-sequences play a crucial role. Based on the high degree of heterozygosity expected in human populations and the observations that in several experimental systems the majority of genotoxic chemicals are capable to induce recombination, an exposure of humans in any stage of life to genotoxic agents represents a serious danger due to the potential induction of mitotic recombination and subsequent undesired health effects.

TITULO: ESTUDIOS SOBRE LA GENOTOXICIDAD DE ALIMENTOS

AUTORES: Ariza, R.R., A.R.Ariza, G.Dorado, M.A.Serrano,
E.Alejandro-Durán, J.Jurado, J.López-Barea y C.Pueyo

CENTRO: DEPARTAMENTO DE GENETICA: FACULTAD DE CIENCIAS.
UNIVERSIDAD DE CORDOBA.

(Financiación: PR84-0341 y PEMARES)

En la actualidad existe el convencimiento de que toda dieta humana contiene compuestos mutagénicos y/o carcinogénicos, de aquí la importancia de los estudios que pretenden una evaluación del potencial genotóxico de alimentos de alto consumo. En el presente estudio se ha utilizado como ensayo genotoxicológico el test Ara de mutaciones directas. Los alimentos estudiados han sido: 1) bebidas de alto consumo, no alcohólicas (café, malta tostada y té) y alcohólicas, tanto bebidas no destiladas (vino tinto, rosado y blanco) como destiladas (coñac), y 2) moluscos recogidos en diferentes zonas del litoral onubense. El test Ara identifica el café y té como mutágenos potentes en ausencia de activación metabólica (mezcla S9). Una taza de café o té induce aproximadamente 3×10^6 mutantes Ara^R. Todos los cafés son mutagénicos con independencia de la forma de tueste (natural o torrefacto), la forma de presentación (en granos, molido o instantáneo) y la presencia o no de cafeína. Sólo el café verde no resultó mutagénico por lo que el/los mutágeno/s debe/n surgir como consecuencia del proceso de tostado. Las soluciones de café y té producen H₂O₂, explicando por sí misma esta especie activa de oxígeno entre el 40 y el 60% del potencial mutagénico de dichas bebidas en el test Ara. Por el contrario, el test de Ames, poco sensible a la acción mutagénica del H₂O₂, identifica el metilglioxal como principal responsable. Las bebidas alcohólicas estudiadas (vino y coñac) resultaron también potentes mutágenos directos. Todos los vinos dieron resultados positivos aunque mostraron gran variabilidad en su potencial mutagénico: los vinos tintos indujeron entre 8218 y 629 mutantes Ara^R/ml, los blancos entre 4985 y 979 Ara^R/ml y los rosados entre 1182 y 362 Ara^R/ml. La mayoría de los coñacs resultaron positivos (entre 9615 y 135 mutantes Ara^R/ml); dos marcas se consideraron no mutagénicas. Igual que en el caso de las bebidas no alcohólicas (café y té), el H₂O₂ se responsabiliza de la mayor parte de la mutagénesis observada con el test Ara. De nuevo, la escasa sensibilidad del test de Ames hacia el H₂O₂ explica la importancia que se había erróneamente atribuido a flavonoides mutagénicos, tales como quercetina y kaempferol. La oxidación de compuestos fenólicos naturales en plantas podría estar en el origen de la mutagénesis observada. Los niveles de actividad de diversas enzimas detoxificadoras se han analizado en muestras de moluscos recogidas en ciertas zonas del litoral onubense. Moluscos procedentes de zonas con mayores niveles de contaminación muestran incrementos significativos en los niveles de ciertas enzimas, siendo particularmente relevantes las diferencias en superóxido dismutasa. Los estudios bioquímicos se están completando con medidas de actividad mutagénica en extractos de las mismas muestras.

TITULO: Ensayos biodirigidos en la determinación e identificación de mutágenos en muestras ambientales complejas.

AUTORES: M.GRIFOLL (1), A.M.SOLANAS (1), P.FERNANDEZ (2), J.M.BAYONA (2).

CENTRO: (1) Dpto. Microbiología. Fac. Biología. Univ.Barcelona
(2) Instituto de Química Ambiental, C.I.D., C.S.I.C.

La aplicación del Test de Ames a extractos orgánicos de sedimentos del litoral Barcelonés dió resultados ambiguos, no pudiéndose demostrar la mutagenicidad de las mismas. Estos resultados no estaban en concordancia con el conocimiento de la contaminación que se disponía (elevada concentración de HFAs). El fraccionamiento químico de los extractos mediante GPC (cromatografía de permeación en gel) ha permitido aislar una fracción enriquecida en este tipo de compuestos que da resultados positivos con la cepa TA-98. El subfraccionamiento de esta fracción mediante HPLC acoplado a los ensayos de Ames ha permitido demostrar la elevada mutagenicidad de estas muestras así como la identificación de los compuestos responsables.

TITULO: REPARACION POR RECOMBINACION DE LAS LESIONES PRODUCIDAS POR CISPLATINO EN EL DNA DE *E. coli*

AUTORES: M. Pueyo^a, F. Sampedro^b, J. Bonal^b, J. Barbé^a y M. Llagostera^a

CENTRO: ^a Departament de Genètica i Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, (Barcelona), Spain.
^b Laboratori d'Investigació, Servei de Farmàcia, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain.

Cisplatino (cis-diaminodicloroplatino(II)), es un efectivo agente antitumoral de amplio uso en clínica. Se ha demostrado que este compuesto se une al DNA dando lugar a complejos Pt-DNA responsables de la inhibición de la síntesis de DNA. Se ha comprobado que la nucleasa UVRABC, reconstituida *in vitro* a partir de proteínas UvrA, UvrB y UvrC purificadas de *E. coli* reconoce y repara *in vitro* los enlaces cruzados intracatenarios producidos por este compuesto. Estudios *in vivo* han mostrado la sensibilidad de los mutantes *uvr* de *E. coli* al tratamiento con cisplatino. Además, mutantes *dam* o *recA* presentan una disminución de la supervivencia celular al ser tratados con cisplatino. Por otra parte, estudios realizados en nuestro laboratorio han mostrado que el mutante *recA430* (deficiente en la inducción del sistema SOS pero activo en recombinación) es más resistente al cisplatino que el mutante *recA13* (deficiente tanto en la inducción del sistema SOS como en recombinación). En este trabajo se ha estudiado la viabilidad de diferentes mutantes *recA* con el fin de determinar la participación de las actividades proteásica y recombinativa en la reparación de los complejos Pt-DNA. Se ha analizado la supervivencia de un mutante eficiente en recombinación (*recA 1213*) y de un mutante defectivo en la actividad recombinativa (*recA1203*), siendo ambos proteasa RecA constitutivos. La mayor supervivencia del mutante *recA 1213* indica que la vía de reparación postreplicativa dependiente de RecA participa claramente en la reparación del DNA lesionado por cisplatino.

TITULO: Regulación de la expresión de los genes *nrdAB* y su inducibilidad por agentes genotóxicos

AUTORES: I. Gibert, J. Sitjes, M. Llagostera y J. Barbé

CENTRO: Dpto. Genética y Microbiología. Fac. Ciencias. U.A.B. Bellaterra (Barcelona)

Tanto en procariotas como en eucariotas, la biosíntesis de deoxirribonucleótidos (dNTPs) a partir de sus correspondientes ribonucleótidos (NTPs) es catalizada por el enzima ribonucleotidil difosfato reductasa (RDP reductasa) con excepción del dTTP, cuya síntesis deriva de dCTP y dUDP. Así, la RDP reductasa juega un papel crucial en el balance de precursores de DNA. Desequilibrios en los niveles internos de dNTPs están asociados con diferentes efectos genéticos y con cambios en la sensibilidad celular frente a agentes que lesionan el DNA. Además, se sabe que, tanto en procariotas como en eucariotas, determinados agentes físicos y químicos producen alteraciones en los niveles intracelulares de precursores de DNA. Trabajos realizados con la RDP reductasa de *E. coli* han demostrado que la reducción de NTPs está bajo un control alostérico. El enzima está formado por dos subunidades denominadas B1 y B2, codificadas por los genes *nrdA* y *nrdB* respectivamente. En este trabajo, se presenta la construcción de varias fusiones génicas entre los genes *nrdA* y/o *nrdB* y el gen *lacZ*. Estas fusiones han permitido identificar las unidades transcripcionales de la region *nrd*, estudiar la expresión de ambos genes y determinar la inducibilidad del gen *nrdA* por agentes químicos y físicos que perturban la replicación del DNA. Los resultados obtenidos muestran que el promotor de *nrdA* es inducible por agentes que lesionan el DNA, mientras que *nrdB* no es inducible por estos compuestos. Además, el gen *nrdA* presenta un doble mecanismo de control, LexA-dependiente y LexA-independiente. Todos los agentes inductores del sistema SOS (LexA-dependiente) probados, produjeron un incremento en la transcripción del gen *nrdA*, mientras que algunos compuestos no inductores del sistema SOS, también incrementaron la expresión de dicho gen.

TITULO: Estudios de activación metabólica por extractos de *Zea mays*

AUTORES: P. Ysern, J. Sitjes, J. Barbé y M. Llagostera

CENTRO: Departament de Genètica i Microbiologia. Fac. Ciències. UAB. Bellaterra

El uso extendido de pesticidas y otros agentes químicos en la agricultura, hace de la evaluación del posible riesgo genotóxico de estos compuestos, un tema de gran interés para la salud humana.

Los efectos que los productos genotóxicos pueden producir en las plantas, son: 1) las lesiones en la propia planta y 2) su acumulación en los tejidos que pueden afectar a los animales y al hombre que los consumen.

Por ello, y dado que se sabe que para algunos compuestos los metabolitos difieren en animales y plantas, se ha dirigido el presente estudio a determinar la capacidad de activación metabólica de extractos de *Zea mays* frente a determinados compuestos.

El ensayo aplicado ha sido el test de Ames, incorporando los extractos de maíz (S2), de manera análoga a como se hace con la fracción S9 de hígado de rata.

La fracción S2 de *Zea mays* ha mostrado ser eficaz ya que activa el promutágeno 2AF e incrementa el potencial mutagénico del NOP. Así mismo, se ha determinado que extractos obtenidos de distintos tejidos de la planta (raíces, tallo y primeras, segundas y terceras hojas), presentan una similar capacidad de activación metabólica.

Por último, se ha empezado a aplicar estos extractos al estudio de la genotoxicidad de pesticidas.

TITULO: Estudio de la actividad citotóxica y mutagénica de piretroides.

AUTORES: A.HERRERA, C.CABALLO, A.SANTA MARIA, F.SANZ, E. DE LA PEÑA.(1)

CENTRO: INSTITUTO DE SALUD CARLOS III. MAJADAHONDA (MADRID)
(1) INSTITUTO DE EDAFOLOGIA Y BIOLOGIA VEGETAL (CSIC)MADRID

Se estudia la actividad citotóxica y mutagénica de los piretroides: tetratrin, deltametrin y cipermetrin y de un extracto de piretrinas naturales.

El análisis del efecto citotóxico se ha llevado a cabo con la línea celular diploide derivada de cultivos primarios de pulmón humano (Fp/6) y con la línea celular establecida de ovario de hamster chino (CHO). La viabilidad celular se cuantificará por contenido proteico y de ATP.

La detección de la actividad mutagénica se ha llevado a cabo con distintos mutantes de Salmonella typhimurium utilizando el ensayo en disco y el de incorporación en placa.

Como sistema de activación metabólica se ha utilizado fracción postmitocondrial de hígado de rata (S9) previamente tratadas con inductores enzimáticos.

Los resultados nos indican que en general, los piretroides analizados mostraron poca citotoxicidad, salvo en el caso de las piretrinas naturales. En todos los casos, tanto el extracto de piretrinas como los piretroides no mostraron actividad mutagénica.

TITULO: Estudio de los efectos mutagénicos de derivados de triazino indoles mediante los tests de Ames y de intercambio entre cromátidas hermanas.

AUTORES: López de Cerain, A., García, E. y Gullón, A.

CENTRO: Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Navarra.

Se ha estudiado la actividad mutagénica de dos compuestos (D_3 y D_4)*, cabezas de una nueva serie con importante actividad⁴ antiagregante plaquetar e hipotensora, y de sus precursores (A_3 y A_4)* mediante el test de Salmonella typhimurium (estirpes TA 98, TA 100, TA 97 y TA 102) por el procedimiento de incorporación en placa.

D_3 fue mutagénico para todas las estirpes y D_4 para TA 98 y TA 100, si bien la adición de la fracción hepática microsomal (S9) de ratas tratadas con Aroclor 1254 inhibió la actividad mutagénica de ambos compuestos. Los precursores no presentaron efectos mutagénicos.

Los compuestos A_3 y A_4 se ensayaron además mediante el test de intercambios⁴ entre cromátidas hermanas (SCE) a partir del cultivo de linfocitos de sangre periférica. Con ninguno de los dos compuestos se observó aumento de la frecuencia de SCE.

- *. D_3 : 3-Óxido de 4-(5-metil-1,2,3-triazino [5-4b]indolil) carboxilato de etilo.
- D_4 : 3-Óxido de 4-(5-metil-1,2,3-triazino [5-4b]indolil) carboxilato de 2-cloroetilo.
- A_3 : 2-(1-metil-3-hidroxicarbonil-2-indolil) acetato de etilo.
- A_4 : 2-(1-metil-3-hidroxicarbonil-2-indolil) acetato de 2-cloro etilo.

TITULO: "EXPOSICION ESQUEMATICA DE ESTUDIOS TOXICOLOGICOS LLEVADOS A CABO
EN LA SECCION DE TOXICOLOGIA EXPERIMENTAL Y MUTAGENESIS"

AUTORES: Barea, M., Pollastrini, M.T., Rubio, M.C., De la Fuente, L y Joyanes, M

CENTRO: Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Subdirección General de
Control. Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda. MADRID.

RESUME

Se hará una exposición esquemática de las líneas de investigación actuales de esta Sección, aportando el mismo tiempo criterios de la CEE en el campo de la evaluación toxicológica---mutagénesis---de productos químicos en general.

TITULO: "EFECTO GENOTOXICO DE GRASAS SOMETIDAS A PROCESOS CULINARIOS=

I. ESTUDIO DE REVERSION EN SACCHAROMYZES CEREVISAE"

AUTORES:

JOYANES, M^a., MEDINA, A. I. & SALAS, J.

CENTRO: Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Subdirección de Control.

Instituto Carlos III. Majadahonda. 28220 Madrid

RESUMEN

Se ha realizado un estudio genotóxico sobre grasas comestibles que han sufrido procesos culinarios de tratamientos térmicos altos.

Para ello se ha extraído previamente de las grasas sometidas a estos procesos los compuestos polares, a efectos de su diferenciación genotóxica en *S. cerevisiae*.

Los resultados arrojan un efecto tóxico, así como fenómenos de reversión en la cepa utilizada, D₇.

TITULO: Evaluación genotóxica de la acroleina

AUTORES: Ana Rosario Barros, Marcelino García, María Sierra
y Miguel A. Comendador

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

La acroleina es un aldehído insaturado ampliamente utilizado en una variedad de procesos industriales. Además, constituye un importante contaminante atmosférico. La mutagenicidad de la acroleina y otros aldehídos insaturados de cadena corta fue primeramente reconocida por Rapoport en 1948, utilizando el test SLRL en estadios embrionarios y larvarios en Drosophila melanogaster. Desde entonces, la mutagenicidad y/o carcinogenicidad de la acroleina se ha estudiado utilizando distintos sistemas con resultados muy dispares.

Sin embargo, a pesar de las facilidades metodológicas que presenta, D. melanogaster no ha vuelto a ser utilizado a estos efectos. Con el proyecto que hemos iniciado pretendemos determinar la genotoxicidad de la acroleina mediante los test SLRL, pérdida de cromosomas sexuales, inducción de traslocaciones recíprocas y SMAR. Asimismo, se pretende aislar mutaciones en el locus vermilion cuyo análisis molecular permita relacionar el tipo de mutación inducida con la clase de lesión que la acroleina induzca en el ADN.

Se presentan los primeros resultados obtenidos.

TITULO: UTILIZACIÓN DEL SISTEMA GENÉTICO INESTABLE *white-zeste* DE *Drosophila melanogaster* EN LA DETECCIÓN DE MUTÁGENOS Y CARCINÓGENOS.

AUTORES:

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

CENTRO:

Grupo de Mutagénesis Química, Unidad de Genética, Departamento de Genética y Microbiología, Universidad Autónoma de Barcelona.

Diversos trabajos realizados previamente con el sistema genético inestable *white-zeste* de *D. melanogaster* han evidenciado la sensibilidad del mismo a la acción de diversos agentes mutagénicos y carcinogénicos. Las características de este sistema lo hacen apto para ser usado como detector de lesiones genéticas inducidas tanto en células somáticas como germinales.

Para valorar la eficacia de este sistema en la detección de la genotoxicidad de mutágenos y carcinógenos, hemos analizado los efectos de 15 compuestos genotóxicos (5 mutágenos cancerígenos, 5 mutágenos no cancerígenos y 5 carcinógenos no mutagénicos) sobre las células somáticas y germinales de machos *white-zeste* tratados en fase larvaria. Actualmente realizamos el mismo estudio con otra cepa del mismo sistema que lleva incorporada una mutación ligada al sexo *mei-9^a* deficiente para la reparación por escisión para comprobar si con ello se consigue aumentar la sensibilidad del sistema y su eficacia como ensayo para detectar mutágenos/carcinógenos.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto las buenas cualidades del sistema como detector de genotoxicidad al analizar únicamente la línea somática y que el uso de mutaciones deficientes en reparación del ADN no siempre mejoran esas cualidades sino que más bien, como en nuestro caso, dificultan la realización del ensayo por problemas de elevada toxicidad y de recuento de sucesos mutacionales.

TITULO: EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS GENOTÓXICOS DEL AGUA TRITIADA MEDIANTE ENSAYOS DE DETECCIÓN DE MUTACIONES SOMÁTICAS EN *Drosophila*

AUTORES:

N. Xamena, A. Velázquez, A. Creus y R. Marcos

CENTRO:

Grupo de Mutagénesis Química, Unidad de Genética, Departamento de Genética y Microbiología, Universidad Autónoma de Barcelona.

El tritio es un isótopo pesado e inestable del hidrógeno que se origina de un modo espontáneo en la atmósfera por acción de los rayos cósmicos y, artificialmente, como producto de la fusión en los reactores nucleares.

A pesar de emitir partículas β de baja energía y poca penetración, y ser rápidamente reemplazado en el organismo humano, estudios recientes han puesto de manifiesto los efectos nocivos que para los seres vivos puede representar la exposición a este isótopo, así como los efectos genotóxicos en cultivos celulares.

Ello nos ha llevado a evaluar la genotoxicidad del agua tritiada (la forma más frecuente en la que el tritio se halla en el ambiente) en *Drosophila melanogaster*, para lo cual hemos utilizado dos ensayos de detección de mutaciones somáticas con los sistemas genéticos *white-zeste* y $w^1(Dp(1:1:1:1)w^1)$, respectivamente.

En ambos casos, los sucesos mutacionales en el locus *white* de las células de los discos imaginales de los ojos se manifiestan por la aparición de sectores de pigmentación diferente a la amarillo-anaranjada característica de los machos de ambos sistemas.

Nuestros resultados indican que si bien el agua tritiada administrada a las larvas a las dosis de 150, 225 y 375 μCi no parece afectar a la supervivencia ejerce una acción genotóxica con una clara relación dosis-efecto, excepto en la cepa *UZ-me19**.

TITULO: Utilización de cultivos de células de peces en los ensayos alternativos de ecotoxicidad.

AUTORES: A.CASTAÑO, A. SANTA MARIA

CENTRO: INSTITUTO DE SALUD CARLOS III. MAJADAHONDA.
MADRID.

Se hace una revisión del empleo de técnicas "in vitro" de toxicidad sobre líneas celulares establecidas de peces.

En la valoración de productos tóxicos medioambientales dichas líneas celulares son más representativas que las convencionalmente usadas, puesto que ofrecen información más precisa de los efectos que se presentan en los eslabones ecológicos inferiores.

TITULO: Alteraciones de los niveles de ATP como medida de citotoxicidad.

AUTORES: C. BACERRIL, A. SANTA MARIA.

CENTRO: INSTITUTO DE SALUD CARLOS III. MAJADAHONDA (MADRID).

La alta sensibilidad que presenta la medida de ATP por bioluminiscencia -/ ($\pm 2,4$ mg), nos permite conocer las diferentes concentraciones que se presentan a lo largo del ciclo celular. Es posible por tanto detectar de forma rápida alteraciones metabólicas producidas por tóxicos a muy bajas concentraciones.

TITULO: Citotoxicidad de setas comestibles con diferentes S9.

AUTORES: C.CABALLO, A. SANTA MARIA, C.BECERRIL, A.CASTAÑO, F.SANZ.

CENTRO: INSTITUTO DE SALUD CARLOS III. MAJADAHONDA. MADRID.

Se ha estudiado la citotoxicidad de dos setas cultivadas comestibles en dos concentraciones: Agaricus bisporus y Pleurotus ostreatus. El estudio se ha llevado a cabo con células procedentes de ovario de hamster chino (línea celular CHO). Como sistema de activación metabólica se ha utilizado fracción postmitocondrial de hígado de rata (S9) previamente tratadas con diferentes inductores enzimáticos (fenobarbital y Aroclor 1254) y otra de origen comercial liofilizada de los laboratorios Organics Ltd.

La citotoxicidad en general es mayor cuando se realizan los ensayos en ausencia de S9. Sin embargo, en presencia de S9 la citotoxicidad se ve influida por el agente inductor empleado y la concentración de las setas utilizadas.

TITULO: Nuevas metodologías para valorar la persistencia de las lesiones cromosómicas inducidas por agentes mutagénicos.

AUTORES: F. Cortés, P. Escalza, J. Piñero, P. Daza

CENTRO: DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR. FACULTAD DE BIOLOGIA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

El análisis de los intercambios entre cromátidas hermanas (ICH) viene siendo utilizado como test para detectar sustancias potencialmente mutagénicas. Se realiza normalmente, a nivel cromosómico, en células superiores cultivadas o "in vivo" que han sustituido la Timidina (dT) por Bromodeoxiuridina (BrdU) durante dos ciclos de replicación del ADN. Una dificultad inherente a dicho procedimiento es que no se puede conocer cuantos intercambios ocurren en cada uno de los ciclos celulares.

Con ese objetivo hemos desarrollado dos protocolos experimentales alternativos que implican la tinción diferencial de los cromosomas en tres tonos (TWD), utilizando como marcador BrdU durante tres ciclos de división sucesivos, tanto para células animales como para plantas.

La principal innovación introducida a la técnica original ha sido el uso de fluorodesoxiuridina (FdU), para inhibir la síntesis endógena de dT, y proporciones fijas de BrdU/dT exógena para controlar el grado de bromosustitución del DNA, lo cual asegura una alta reproducibilidad.

Disponer de tal metodología estandarizada nos permite abordar varios problemas relacionados con el fenómeno de formación ICH; por ejemplo, si las lesiones introducidas por mutágenos, que inducen ICH, son reparadas eficazmente o si por el contrario persisten total o parcialmente durante generaciones celulares sucesivas.

TITULO: DETECCION DEL POTENCIAL CLASTOGENICO DEL FENVALERATO MEDIANTE EL ENSAYO DE MICRONUCLEOS UTILIZANDO CITOCALASINA B.

AUTORES: PUIG, M.; CARBONELL, E.; XAMENA, N.; CREUS, A.; MARCOS, R.

CENTRO: GRUPO DE MUTAGENESIS QUIMICA, UNIDAD DE GENETICA,
Dpto. GENETICA Y MICROBIOLOGIA.
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA

Entre los distintos tipos de lesiones inducidas en el material genético de los organismos expuestos a la acción de agentes con potencial genotóxico destacan las mutaciones cromosómicas, alteraciones que afectan a la morfología y/o número de cromosomas.

Un método simple y rápido de evaluar dichas alteraciones consiste en detectar la aparición de micronúcleos, ya que éstos aparecen como consecuencia de la rotura cromosómica o de alteraciones en el huso mitótico, produciendo pérdidas totales o parciales de cromosomas que, al no quedar integrados en el núcleo de la célula, se condensan en forma de "micronúcleos" dentro del citoplasma celular.

Las modificaciones introducidas recientemente en la técnica de preparación de micronúcleos en linfocitos humanos, preservando la integridad del citoplasma y utilizando citocalasina B, han supuesto un considerable aumento en la sensibilidad de este ensayo, ya que la citocalasina B, un inhibidor de la citocinesis o división del citoplasma, permite distinguir células sin dividir que son mononucleadas, de aquéllas que han sufrido una división y son binucleadas, facilitando la determinación de los micronúcleos formados.

Estudios previos sobre la genotoxicidad del insecticida piretroide fenvalerato, en linfocitos humanos, mediante los ensayos de aberraciones cromosómicas y de intercambios entre cromátidas hermanas, indican la mutagenicidad de este compuesto. El presente trabajo pretende ampliar la información sobre los efectos del fenvalerato, estudiando su capacidad de inducir micronúcleos, y valorando la sensibilidad del ensayo.

Se han empleado cuatro concentraciones de fenvalerato (10, 20, 40 y 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y dos tiempos de fijación distintos (72 y 78 horas), comparando los resultados con los obtenidos con un control negativo y un control positivo (Mitomicina C).

Las frecuencias de micronúcleos observadas en los distintos experimentos confirman la fiabilidad del método para este tipo de células, así como la capacidad mutagénica del fenvalerato a las concentraciones utilizadas.

TITULO: PROGRAMA INFORMATICO PARA EL ANALISIS ESTADISTICO MEDIANTE LA PRUEBA DE KOLMOGOROV-SMIRNOV DE LOS DATOS RECOGIDOS EN UN ENSAYO DE MICRONUCLEOS

AUTORES: VILLAMAYOR, F.; ROMERO, A.; SACRISTAN, A.; ORTIZ, J. A.

CENTRO: CENTRO DE INVESTIGACION GRUPO FERRER

El análisis estadístico de muchos de los ensayos de mutagénesis, entre ellos el de micronúcleos, presenta ciertas complicaciones debidas al tipo de distribución de los datos que en ellos se recogen, haciendo que no sea idónea la utilización de pruebas paramétricas (ANOVA, Scheffé, Dunnet, etc...). Siguiendo un criterio práctico y a la vez riguroso, se decidió la aplicación de la prueba de Kolmogorov-Smirnov para la comparación de dos muestras de pequeño tamaño ($N \leq 40$), dado que por ser una prueba de tipo no-paramétrico, prácticamente no establece ningún prerrequisito sobre el tipo de distribución de los datos, ni que se efectúe ninguna transformación de los mismos, sumándose a todo ello la sencillez de su concepción.

Por todo ello se creyó de gran utilidad la elaboración de un programa informático que automatizara todo el proceso de análisis estadístico. Este programa (MICRONUC) se escribió en GWBASIC V3.21, para ordenadores PC y compatibles. Consta de cuatro módulos básicos: entrada de datos, ejecución del test, cambio de unidad de disco/directorio, y salida del programa. Los datos de entrada son grabados en un fichero secuencial ASCII, y los resultados son sacados por impresora, comprendiendo la significación estadística de las comparaciones entre sexos, y la de las comparaciones entre el lote control negativo y los lotes control positivo y el del producto a ensayar, así como una estadística descriptiva de todos los sublotes.

Como muestra de la utilización del programa, se presentan los resultados obtenidos en el ensayo de micronúcleos del Sertaconazol (producto de investigación del Grupo Ferrer), escogido como ejemplo de sustancia no mutágena y de un control positivo como la Ciclofosfamida.

TITULO: EVALUACION DE LA ACTIVIDAD GENOTOXICA DE PLAGUICIDAS EN TRABAJADORES AGRICOLAS EXPUESTOS, MEDIANTE EL ANALISIS DE INTERCAMBIOS ENTRE CROMATIDAS HERMANAS.

AUTORES: CARBONELL, E.; PUIG, M.; XAMENA, N.; CREUS, A.; MARCOS, R.

CENTRO: GRUPO DE MUTAGENESIS QUIMICA, UNIDAD DE GENETICA,
Dpto. GENETICA Y MICROBIOLOGIA.
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA

A pesar de la probada bondad de los ensayos mutagénicos de corta duración en cuanto a su capacidad de detectar compuestos mutagénicos/cancerígenos, la extrapolación de los resultados obtenidos en estos ensayos para evaluar el riesgo sobre poblaciones humanas puede ser conflictiva.

Un procedimiento que permite obviar esta dificultad es el estudio de alteraciones genéticas inducidas en poblaciones expuestas a agentes sospechosos de poseer actividad genotóxica.

De entre las diversas células que pueden ser objeto de estudio, los linfocitos de sangre periférica representan un material ideal, al ser fáciles de obtener y cultivar y tener un reemplazamiento lento en el organismo.

En este trabajo se presenta un estudio piloto del efecto mutagénico que la exposición a compuestos fitosanitarios tiene sobre un grupo de 29 trabajadores agrícolas de la zona del Maresme, comparándolo con un control de tamaño similar, seleccionado de acuerdo a las características del grupo expuesto (edad, hábitos de vida, etc.).

El estudiar el riesgo genotóxico de la exposición a este tipo de compuestos presenta un interés especial debido a la existencia de estudios "in vitro" que confirman el potencial mutagénico de muchos de ellos y a que son compuestos extensamente utilizados, siendo el número de personas expuestas considerablemente elevado.

El camino a seguir para evaluar el potencial genotóxico de los plaguicidas ha sido el de detectar las frecuencias de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) en ambos grupos, ya que, aunque el mecanismo que origina este tipo de alteración es desconocido, la detección de incrementos en el número de SCE en linfocitos de personas expuestas a la acción de diversos agentes avala la bondad de este ensayo.

La comparación de las distribuciones del número de SCE entre los distintos subgrupos indica que, aunque la muestra de trabajadores agrícolas expuestos no presenta un aumento medio significativo respecto a la población control, existen otros factores que parecen influir en el número individual de intercambios (exposición a radiación, tabaquismo, etc.).

TITULO: DOSIMETRIA INTERNA DE LA EXPOSICION AL CLORURO DE VINILO
POR MEDIO DE LA EXCRECION DE TIOETERES URINARIOS

AUTORES: M. IZQUIERDO, J. VAL, B. SINUES.

CENTRO: FAC. MEDICINA. ZARAGOZA

El cloruro de vinilo por medio de oxidasas microsomales de lugar a metabolitos intermedios capaces de unirse covalentemente con el DNA. Por su parte, éstos pueden ser detoxicados eliminándose por orina como mercaptúricos tras su conjugación con glutatión por medio de una GST. En el presente trabajo se pretende establecer las posibles diferencias de eliminación de tioéteres urinarios antes y después de la jornada laboral como medida de la exposición interna de estos trabajadores. La muestra comprende 93 individuos: Grupo I, (control), 41 individuos no expuestos. Grupo II, 52 trabajadores: IIA, subgrupo de alta exposición y IIB de baja exposición. Nuestros resultados muestran ausencia de significación estadística en la eliminación de T.U. antes de después de la jornada laboral. La concentración de T.U. es mayor cuanto mayor es el grado de exposición tanto en la orina recogida al final de la jornada laboral como antes de comenzarla, existiendo diferencias de eliminación estadísticamente significativas al comparar el grupo I (control) con ambos subgrupos de exposición (IIA, IIB), asimismo también se observa significación estadística ($p < 0.05$) al comparar los subgrupos IIA y IIB. El poder discriminativo de la prueba, su sencillez y bajo coste económico nos hace proponer el método utilizado entre las medidas higiénicas utilizadas que tienden a evitar los riesgos para la salud en individuos expuestos ocupacionalmente al cloruro de vinilo.

TITULO: POSIBLES INDICADORES DE RIESGO NEOPLASICO EN INDIVIDUOS FUMADORES

AUTORES: P. RUEDA, B. SINUES

CENTRO: FARMACOLOGIA - FACULTAD DE MEDICINA. ZARAGOZA

En el humo del tabaco existen sustancias potencialmente electrofílicas, que por diferentes mecanismos enzimáticos, como la hidroxilación, pueden establecer uniones covalentes con ADN, ARN y/o proteínas celulares, que llegarían a producir lesiones irreversibles e inducir mutagenicidad y carcinogénesis. Por otra parte, pueden ser detoxicadas mediante su conjugación con glutatión y eliminadas por orina como derivados mercaptúricos (tioéteres). El objetivo de este trabajo es determinar la posibilidad de utilizar la concentración de tioéteres, premutágenos y mutágenos en orina, así como valorar la posible influencia del fenotipo hidroxilador. La muestra estudiada fué de 81 individuos divididos en dos grupos: Grupo I: 30 individuos no fumadores; Grupo II: 51 fumadores divididos en: Subgrupo IIA, 26 fumadores de 10-20 cig./día; y Subgrupo IIB, 25 fumadores de más de 20 cig/día. Los parámetros estudiados fueron: concentración de tioéteres, índice de premutágenos y mutágenos, y fenotipo hidroxilador, valorándose como lento y rápido.

Los resultados reflejaron un aumento significativo en el caso de tioéteres ($p=0.0001$) y de premutágenos ($Z=5.86$). Los dos individuos con fenotipo hidroxilador lento no reflejaron valores significativos, lo que indica que dicho fenotipo no interfiere en la valoración de los otros parámetros estudiados.

Estas pruebas se constituyen como indicadores biológicos de exposición, determinando como grupo de alto riesgo a aquellos individuos que presentan disminución de tioéteres y mutágenos en orina.

TITULO: CONSUMO DE HEROINA, INFECCION POR VIH Y VHB: ESTUDIO CITOGENETICO E INMUNO-BIOQUIMICO.

AUTORES: M.P. COLOMA, C. LARRAZ, M. GUTIERREZ, y B. SINUES

CENTRO: FARMACOLOGIA - FACULTAD DE MEDICINA Y H.C.U. ZARAGOZA

El VIH, agente etiológico del SIDA, es un virus linfotrópico T humano, capaz de inducir la aparición de neoplasias, sobre todo a base de linfomas, en los sujetos a los que infecta. El grupo de riesgo más afectado dentro de España, es el integrado por drogodependientes de heroína por vía intravenosa (V.I.), en los que con frecuencia inciden otra serie de infecciones víricas, de las que la más frecuente es la ocasionada por el virus de la hepatitis B (VHB), que presenta potencial acción carcinógena en los sujetos infectados por él.

Dado que los linfomas son las neoplasias más frecuentes, y que en la iniciación de la carcinogénesis las alteraciones cromosómicas son un paso crucial, se ha pretendido establecer la asociación entre parámetros citogenéticos e inmuno-bioquímicos para su posterior seguimiento y/o hallazgo precoz de marcadores de riesgo de padecer linfomas, determinando la responsabilidad del VIH o del VHB en el proceso.

La muestra comprende un total de 96 individuos divididos en 3 grupos: Grupo I: Formado por 30 personas sanas fumadoras; Grupo II: Integrado por 35 heroínómanos VIH(-) y fumadores, de los que 17 fueron VHB(+) (Subgrupo IIA) y 18 fueron VHB(-) (Subgrupo IIB); y Grupo III: Constituido por 31 personas fumadoras, drogodependientes de heroína por V.I. y seropositivos anti-VIH, de los que 21 fueron VHB(+) (Subgrupo IIIA) y 10 VHB(-) (Subgrupo IIIB). La muestra fué homogénea en edad y sexo.

Los cultivos se realizaron en linfocitos de sangre periférica, determinándose el Índice de Proliferación celular (PRI), Aberraciones cromosómicas, Intercambios entre Cromátides Hermanas (SCEs), Micronúcleos, Índice Mitótico, y los parámetros inmunobioquímicos. Los resultados obtenidos muestran en los sujetos VIH(+) un daño cromosómico inducido por la drogadicción e incrementado con la infección viral, lo que puede ser la clave para el desarrollo de linfomas en el SIDA.

TITULO: POLIMORFISMO DE ACETILACION Y EXCRECION DE
MUTAGENOS EN ORINA EN UNA POBLACION EXPUESTA
A ARILAMINAS.

AUTORES: J. Perez-Viguera, A. Sanz-París, B. Sinues-Porta

CENTRO: Dep. Farmacología Fac. Medicina Zaragoza.

Estudios epidemiológicos han encontrado una asociación entre el fenotipo acetilador lento y la aparición de cancer vesical en poblaciones expuestas a aminas aromáticas. La biotransformación de las arilaminas sigue dos vías diferentes: una dependiente y otra independiente de la actividad de la N-acetil transferasa. Nuestra hipótesis de trabajo postula que los acetiladores lentos desviarían su metabolismo hacia la vía independiente de la acetilación dando lugar así a un metabolito electrofílico en orina, potencialmente cancerogénico. La muestra comprende un total de 153 individuos, 70 expuestos y 83 no expuestos a arilaminas. Se estudian los índices premutagénico (IP), mutagénico (IM) y mutagénico tras la adición de beta-glucuronidasa (IMG) en orina, así como el fenotipo acetilador. Nuestros resultados muestran que los individuos expuestos presentan un mayor IMG ($p:0,0001$) que los no expuestos. Dentro del grupo de expuestos, los acetiladores lentos son los que mayor IMG presentan ($p:0,002$), lo que corrobora los datos epidemiológicos.

Sería por tanto, la superior eliminación en orina de conjugados del metabolito electrofílico con glucurónico, conjugado inestable, la posible causante de la asociación: cancer vesical - exposición a arilaminas - fenotipo acetilador lento.

TITULO: EL METABOLISMO CELULAR COMO MODULADOR DE LA ACTIVIDAD GENOTÓXICA DE LOS AGENTES XENOBIÓTICOS

AUTORES: Nieves Abril, Francisco L. Luque-Romero, María José Prieto, Manuel Ruiz-Rubio y Carmen Pueyo

CENTRO: DEPARTAMENTO DE GENÉTICA. FACULTAD DE CIENCIAS.
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA.

El término estrés oxidativo describe una situación celular caracterizada por la elevación de los niveles normales de una serie de derivados del oxígeno (peróxido de hidrógeno, anión superóxido, radical hidroxilo, oxígeno singlete). El incremento en la célula de los niveles de estas especies activas de oxígeno, pone en marcha una serie de reacciones que tienen importantes consecuencias genéticas: mutaciones puntuales, intercambio de cromátidas y alteraciones cromosómicas.

Con el fin de estudiar la posible implicación de especies reactivas de oxígeno en la acción mutagénica de los agentes xenobióticos se han construido estirpes en Escherichia coli con deficiencias metabólicas específicas. Por el momento se dispone de una estirpe deficiente en actividad catalasa (una de las principales enzimas celulares con actividad antioxidante), una estirpe deficiente en la biosíntesis de glutation (considerado un importante antioxidante no enzimático) y una estirpe con ambas deficiencias. La respuesta mutagénica de estas estirpes frente a diferentes grupos de agentes químicos tales como hidrocarburos alifáticos halogenados y agentes alquilantes pone de manifiesto que ciertas especies activas de oxígeno participan en la actividad mutagénica de dichos compuestos. Por ejemplo, las estirpes deficientes en catalasa son hipermutables frente a los hidrocarburos DBE y DCE, mientras que son hipomutables a los agentes etilantes como ENNG, EMS y ENU. Las estirpes deficientes en la biosíntesis de glutation son hipomutables por los agentes metilantes MNNG, MMS y por el hidrocarburo halogenado DBE, sin embargo, el doble mutante deficiente en catalasa y en la biosíntesis de glutation recupera su nivel de mutagenicidad frente a MNNG y MMS mientras que mantiene su hipomutabilidad frente a DBE. La explicación de estos resultados es bastante compleja e implica distintos mecanismos que actualmente están siendo analizados. (Trabajo financiado por CAICYT 2965-83C0-02 y CEC EV4V-0039-E(TT)).

TITULO: INFLUENCIA DE LA TOPOLOGIA DEL DNA SOBRE LA MUTAGENESIS

AUTORES: MANUEL BLANCO, VICENTE ALEIXANDRE, AMPARO URIOS Y GUADALUPE HERRERA

CENTRO: Instituto de Investigaciones Citológicas de la Caja de Ahorros de Valencia (Centro Asociado del CSIC). Amadeo de Saboya 4, 46010 Valencia

Los agentes mutagénicos incrementan la frecuencia de mutagénesis espontánea en varios órdenes de magnitud. Tales agentes lesionan el DNA, modificando su estructura (formación de lesiones premutagénicas). La inducción de una mutación requiere la conversión de una lesión premutagénica (una base modificada químicamente) en una mutación. Para gran parte de lesiones, dicha conversión es el resultado de un proceso que implica la inducción de un conjunto de genes regulados coordinadamente. Esa inducción constituye la respuesta SOS (1). Hemos estudiado la influencia de la topología del DNA sobre la mutagénesis inducida. Dicha influencia puede tener lugar a dos niveles: alteraciones en el superenrollamiento del DNA afectarían a la expresión de genes implicados en el mecanismo mutagénico; estructuras particulares formadas en el DNA tras la interacción con el agente mutagénico podrían favorecer su conversión en una mutación. Hemos demostrado que la deficiencia en la topoisomerasa I, debida a la mutación topA10, incrementa la sensibilidad a la irradiación UV y reduce la mutagénesis inducida. Estos efectos resultarían de la defectuosa inducción de la respuesta SOS observada en bacterias portadoras de la mutación topA10. En bacterias deficientes en el represor LexA, en las que la respuesta SOS se expresa de modo constitutivo, hemos demostrado que el incremento en el superenrollamiento del DNA, debido a la deficiencia en la topoisomerasa I, origina una reducción en la expresión del gen recA.

(1) Rev. Toxicol. 5:15-18 (1988)

PRIMERA REUNION CIENTIFICA DE LA SEMA

PARTICIPANTES		Comunicación nº
ABRIL	N.	24
ALEXANDRE	V.	25
ALEJANDRE-DURAN	E.	1
ARIZA	R.R.	1
ARIZA	A.R.	1
BAREA	M.	8
BARBE	J.	3-4-5
BARTOLOME	F.	
BARROS	A.R.	10
BARRUECO	C.	
BATISTE-ALENTORN	M.	11
BAYONA	J.M.	2
BECERRIL	C.	14-15
BLANCO	M.	25
BONAL	J.	3
BORRAS	M.	
CABALLO	C.	6-15
CARBONELL	E.	17-19
CASTAÑO	A.	13-15
CLERCH	B.	
COLOMA	M.P.	22
COMENDADOR	M.I.	10
CORTES	F.	16
CREUS	A.	11-12-17-19
DAZA	P.	16
DORADO	G.	1
EGIDO	A.	
ESCALZA	P.	16
FERNANDEZ	E.	
FERNANDEZ	P.	2
FUENTE	L. DE LA	8
GARCIA	E.	7
GARCIA	M.	10
GIBERT	I.	4
GRIFOLL	M.	2
GULLON	A.	7
GUTIERREZ	M.	22
HAZEN	M.J.	
HERRERA	A.	6
HERRERA	G.	25
IBAÑEZ	E.	
IZQUIERDO	M.	20
JOYANES	M.	8-9
JURADO	J.	1
LARRAZ	C.	22
LOPEZ-BAREA	J.	1
LOPEZ DE CERAIN	A.	7
LUQUE-ROMERO	F.L.	24
LLAGOSTERA	M.	3-4-5
MANRIQUE	C.	
MARCOS	R.	11-12-17-19

PRIMERA REUNION CIENTIFICA DE LA SEMA

MEDINA	A.L.	9
MOLLA	R.	
MONTERO	R.	
ORTIZ	J.A.	18
PASCUAL	A.	
PEÑA	E. DE LA	6
PEREZ	J.	23
PIÑERO	J.	16
POLLASTRINI	M.T.	8
PRIETO	M.J.	24
PUEYO	M.	3
PUEYO	C.	1-24
PUIG	M.	17-19
RIERA	J.	
RIVERO	M.I.	
ROMERO	A.	18
RUBIO	M.C.	8
RUEDA	P.	21
RUIZ-RUBIO	M.	24
SACRISTAN	A.	18
SALAS	J.	8-9
SAMPEDRO	F.	3
SANTA MARIA	A.	6-13-14-15
SANZ	F.	6-15
SANZ	A.	23
SERRANO	M.A.	1
SIERRA	M.	10-26
SINUES	B.	20-21-22-23
SITJES	J.	4-5
SOLANAS	A.M.	2
SURRALLES	J.	
URIOS	A.	25
VAL	J.	20
VELAZQUEZ	A.	12
VILLAMAYOR	F.	18
WÖRGLER	F.E.	C.I.
XAMENA	N.	11-12-17-19



Amb la col.laboració del Vice-rectorat
de Relacions Exteriors i de Campus