

UNIVERSIDAD DE OVIEDO



II

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

Oviedo, 26 y 27 de abril de 1990

**Area de Genética.
Departamento de Biología Funcional**

II REUNION CIENTIFICA DE LA SEMA

26 de abril

- 9 - 9.30 Entrega de documentación.
- 9.30 - 10.30 Conferencia inaugural. Profesor Doctor **E. W. Vogel**. NUCLEOPHILIC SELECTIVITY OF ALKYLATING AGENTS AND THEIR HYPERMUTABILITY IN *DROSOPHILA* AS PREDICTORS OF CARCINOGENIC POTENCY IN RODENTS.
- 10.30 - 11 Café.
- 11 - 13 **Jurado J., A. Vidal, E. Alejandro-Durán y C. Pueyo**. MUTAGENICIDAD DE ANALOGOS DEL NIFURTIMOX EN *SALMONELLA TYPHIMURIUM*.
Xamena N., M. Batiste-Alentom, A. Egido, A. Velázquez, A. Creus y R. Marcos. USO DE UNA CEPA DE *DROSOPHILA MELANOGASTER* CON EL ALELO *WHITE-IVORY* TETRAPLICADO COMO SISTEMA DE ENSAYO PARA EL ANALISIS GENOTOXICO.
Carbonell E., M. Pulg, A. Velázquez, N. Xamena, A. Creus y R. Marcos. EVALUACION GENOTOXICA DEL P-DICLOROBENCENO EN *DROSOPHILA* Y EN LINFOCITOS HUMANOS.
Barros, A. R., L. M. Sierra, M. García Fernández J. A. Ferreiro y M. A. Comendador. LA ACROLEINA ES MUTAGENICA EN *DROSOPHILA MELANOGASTER*.
- 13 - 15 Comida.
- 15 - 16 **Caballo C., M. V. Barahona, C. Barrueco, E. de la Peña, A. Herrera, A. Santa María y F. Sanz**. ESTUDIO CITOGENETICO DEL PERMETRIN.
García Sagredo J. M. y P. Cabello. EFECTO DE UN CAMPO ELECTROMAGNETICO DE 50 HZ SOBRE CROMOSOMAS HUMANOS IN VITRO: ANALISIS DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS.
- 16 - 16.30 Café.
- 16.30 Mesa Redonda. Toxicogenética y estudios de postgrado.

27 de abril

- 9 - 10.30 **Riera J., P. Ysern, J. Barbé y M. Llagostera**. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD DE ACTIVACION METABOLICA DE TRES FRACCIONES DE ZEA MAYS.
Ysern P., J. Riera, J. Barbé y M. Llagostera. COMPARACION DE LA ACTIVACION METABOLICA PRODUCIDA POR EXTRACTOS DE ZEA MAYS Y DE HIGADO DE RATA.
Beringola M², M.T. Pollastrini, M. Barea y J. Salas. METODO DE PREPARACION Y TRATAMIENTO DE AGUAS SUPERFICIALES PARA SU ESTUDIO MUTAGENICO.
- 10.30 - 11 Café.
- 11 - 12 **De la Fuente L., J. Salas, M. L² Beringola y C. Rubio**. CONSIDERACIONES Y CRITERIOS DE GENOTOXICIDAD PARA LA CARACTERIZACION DE VERTIDOS Y RESIDUOS.
Huici A., L. Regidor y X. Solans. METODOLOGIA PARA EL CONTROL DE TRABAJADORES EXPUESTOS A SUSTANCIAS MUTAGENICAS: EL FACTOR TABAQUISMO.
- 12 - 13.30 **Salas J., C. Rubio, M. T. Pollastrini, L. de la Fuente y M. Barea**. CRITERIOS Y DEFINICION EN LA CLASIFICACION DE SUSTANCIAS MUTAGENICAS EN LA CEE.
- 13.30 Comida.
- 15.30 - 16.30 Conferencia de Clausura. Profesor Doctor **F. H. Sobels**. MUTATIONS, THEIR NATURE AND EXPRESSION: RELEVANCE FOR GENETIC RISK ASSESSMENT.
- 16.30 - 17 Café.
- 17 Reunión anual de la S.E.M.A.

SELECTIVIDAD NUCLEOFILA DE AGENTES ALQUILANTES Y SU HIPERMUTABILIDAD EN *DROSOPHILA* COMO PREDICTORES DE POTENCIA CARCINOGENICA EN ROEDORES

Vogel, E.W.+, A. Barbin*, M. Nivard+ y H. Bartsch*

+ Department of Radiation Genetics and Chemical Mutagenesis, State University of Leiden, The Netherlands

* International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

La evaluación de riesgos relativos que resultan de la exposición a carcinógenos genotóxicos requiere un conocimiento detallado de sus principios de acción. Un punto crucial en tales estudios consiste en las relaciones causales entre potencia carcinogénica en roedores, selectividad nucleofílica de agentes genotóxicos por varias posiciones en el ADN, y perfiles genotóxicos en sistemas eucarióticos.

En este estudio se ha comparado la selectividad nucleofílica (constante de *Swain-Scott*, o el cociente N-7/O⁶-alquilguanina en ADN) de 60 compuestos, la mayoría agentes alquilantes monofuncionales o "cross-linking", con su potencia carcinogénica en roedores (estimas medias TD₅₀; dosis a lo largo de la vida en mg/kg/p.d.), y con dos índices de genotoxicidad en *Drosophila*: (i) respuesta de hipermutabilidad, medida como el incremento de frecuencia de letales recesivos ligados al sexo (SLRL), en una línea deficiente en reparación por excisión del ADN (exr-) en relación a la línea normal (exr+); (ii) eficiencia clastogénica relativa expresada por el cociente entre aberraciones cromosómicas (pérdida del cromosoma X en anillos) y SLRL inducidos en la línea EXR+

Para un subgrupo de agentes de acción directa, los monofuncionales, la selectividad nucleofílica y los valores TD₅₀ en roedores, o los índices de hipermutabilidad en *Drosophila* para procarcinógenos metilantes o etilantes, eran similares a los respectivos valores de sus metabolitos finales. En contraste, una serie de agentes "cross-linking" no sigue estas correlaciones positivas.

La eficiencia clastogénica relativa en *Drosophila*, de 13 carcinógenos alquilantes monofuncionales, de acción directa, aumenta con su selectividad nucleofílica. Además todos los agentes "cross-linking" tienen una eficiencia clastogénica claramente mayor que el grupo anterior, permitiendo de este modo la clasificación de carcinógenos en agentes monofuncionales o "cross-linking".

Por todo ello, este análisis multifactorial en *Drosophila*, junto con las correlaciones significativas descritas entre potencia carcinogénica y selectividad nucleofílica, permiten la categorización de procarcinógenos y compuestos químicos de valor 1 ó TD₅₀ desconocidos de acuerdo con sus mecanismos de acción. De este modo, este análisis multifactorial permitiría asistir o ayudar en la evaluación cuantitativa del riesgo de agentes genotóxicos, como una nueva aproximación.

NUCLEOPHILIC SELECTIVITY OF ALKYLATING AGENTS AND THEIR HYPERMUTABILITY IN *DROSOPHILA* AS PREDICTORS OF CARCINOGENIC POTENCY IN RODENTS

Evaluation of relative risks resulting from exposure to genotoxic carcinogens requires detailed understanding of their action principles. A central point in such studies concerns causal relations between carcinogenic potency in rodents, nucleophilic selectivity of genotoxic agents against various sites in DNA, and genotoxicity profiles in eukaryotic systems.

In this study, the nucleophilic selectivity (*Swain-Scott's* constant or initial N-7/O⁶-alkylguanine ratio in DNA) of 60, mostly monofunctional or cross-linking alkylating agents, was compared to their carcinogenic potency in rodents (median TD₅₀ estimates; lifetime doses in mg/kg/b.w.), and to two genotoxicity indices in *Drosophila*: (i) hypermutability response, measured by the increased frequency of induced sex-linked recessive lethal mutations (SLRL) in a strain defective in DNA excision repair (exr-), as compared to the wild type (exr+); (ii) relative clastogenic efficiency, expressed by the ratio of chromosomal aberrations (ring-X loss) to SLRL determined in the exr+ strain.

For a subset of direct-acting, monofunctional alkylating agents, nucleophilic selectivity and TD₅₀ values in rodents, or hypermutability indices in *Drosophila*, were linearly correlated. In addition, the hypermutability indices in *Drosophila* by methylating or ethylating procarcinogens were found to be

II REUNION CIENTIFICA DE LA SEMA

similar to the respective value of their ultimate metabolites. In contrast, a series of cross-linking agents did not follow these positive correlations.

The relative clastogenic efficiency in *Drosophila* of 13 direct-acting, monofunctional alkylating carcinogens increased with their nucleophilic selectivity. In addition, all cross-linking agents had a clearly higher clastogenic efficiency than the former group, allowing classification of carcinogens into monofunctional or cross-linking agents.

Therefore, this multi-endpoint analysis in *Drosophila*, together with the significant correlations described between carcinogenicity potency and nucleophilic selectivity, allow categorization on procarcinogens and chemicals of unknown s or TD_{50} value, according to their mechanism of action.

Thus, as a new approach, this multi-endpoint analysis should assist in the quantitative risk evaluation of genotoxic agents.

MUTACIONES, SU NATURALEZA Y EXPRESION: RELEVANCIA PARA EVALUACION DEL RIESGO GENETICO

Sobels, F.H.

Department of Radiation Genetics and Chemical Mutagenesis.
University of Leiden. Netherland.

Este trabajo discute la naturaleza de las mutaciones, espontáneas o inducidas por rayos X, como se expresan, y lo que ésto significa en términos de riesgo genético. Para la estimación del riesgo, el método más comunmente empleado es el de "doubling-dose". El daño genético se expresa entonces como un incremento en casos de enfermedad genética. El método de la "doubling-dose" se basa en la consideración que el daño al material genético que resulta de la exposición frente a agentes mutagénicos es de naturaleza similar al de las mutaciones que ocurren espontáneamente.

Se discuten resultados recientes en espectros de mutación espontáneos o inducidos por radiaciones ionizantes en distintas líneas celulares de mamíferos. Resultados en los loci, APRT, HPRT, TK y Oubain muestran profundas diferencias. La radiación ionizante induce predominantemente deleciones, y el hecho de que puedan, o no, recuperarse, depende del "locus" en cuestión y de la presencia de genes esenciales para la supervivencia. Además, después de exposición a radiación las deleciones predominaron también en ratón y *Drosophila*. Después del tratamiento con ENU, sin embargo, se observa un espectro de mutación completamente diferente, que consiste principalmente en transiciones (cambios de base). Las mutaciones espontáneas en *Drosophila* se originan en gran medida por inserciones de elementos móviles. La transposición del elemento P, mediado por el sistema MR, se ha usado como sistema modelo. Localizaciones de mutaciones por el elemento P, y estudios de reversiones con mutágenos se han utilizado para comprobar suposiciones subyacentes al concepto de la doubling-dose.

Discutiendo la expresión de deleciones inducidas por rayos X se pone de manifiesto la importancia de los efectos de deleciones pequeñas. En *Drosophila*, algunas deleciones bien caracterizadas tienen efectos deletéreos en condiciones de heterocigocidad (Eeken y Sobels, 1989). En el ratón Favor et al. (1989) han encontrado que la "fitness" de mutantes inducidos por radiación estaba reducida en condiciones de heterocigocidad, mientras que tales efectos en "fitness" no se observaban para mutantes inducidas con ENU.

En el hombre, se ha observado que muchas mutaciones en genes que codifican para enzimas, como los errores innatos del metabolismo, son recesivas. Sin embargo, mutaciones en genes que codifican para proteínas no enzimáticas, como colágeno, son normalmente dominantes, porque la mitad del producto necesario no es suficiente para un normal funcionamiento. Los análisis a nivel molecular muestran que para las mutaciones recesivas son posibles un número de cambios, mientras que para mutaciones dominantes esta variedad está más limitada. Se conoce poco acerca de las mutaciones inducidas por radiación en el hombre. Los resultados de mutaciones en el locus hemoglobina, en una población de Brasil expuesta a radiación, muestran un incremento de cambio, dependiente de la dosis de Hb-A a Hb-S, que es producto de una transversión AT-TA. En línea con la suposición que las mutaciones dominantes aparecen o surgen por un número limitado de cambios moleculares, Favor (1990) encontró que las mutaciones dominantes cataratas necesitan una dosis de

radiación alrededor de cinco veces mayor que la que se necesita para inducir mutaciones recesivas. Puesto que las estimas de riesgo para mutaciones dominantes se han basado (hasta ahora) en frecuencias inducidas de mutaciones recesivas en el ratón, el mensaje es que en realidad el riesgo sería más bajo que el calculado hasta el momento.

MUTATIONS, THEIR NATURE AND EXPRESSION: RELEVANCE FOR GENETIC RISK ASSESSMENT

This paper deals with a discussion on the nature of mutations, spontaneously or X-ray induced, how these become expressed and what this means in terms of genetic risks. For risk estimation, the doubling-dose method is most commonly employed. The genetic damage is expressed as an increase in cases of genetic disease. The doubling-dose method rests on the assumption that the damage to the genetic material resulting from exposure to mutagenic agents is similar in nature to mutations arising spontaneously.

Recent findings on the spectrum of spontaneous and ionizing-radiation induced mutations in different mammalian cell lines are discussed. Findings for the APRT, HPRT, TK and Oubain loci show profound differences. Ionizing radiation predominantly induces deletions, and whether these can be recovered depends on the gene locus and the presence of genes essential for survival. Following irradiation, deletions were likewise predominantly observed in the mouse and *Drosophila*. After treatment with ENU, however, an entirely different spectrum of mutations is observed, consisting mainly of base transitions. Spontaneous mutations in *Drosophila* originate to a large extent from insertion elements. MR-mediated P-element transposition was used as a model system. Localization of P-element mutations and reversion studies with mutagens were used to test assumptions underlying the doubling-dose concept.

In discussing the expression of X-ray induced deletions, the importance of effects of small deletions is pointed out. In *Drosophila*, a number of well-characterized deletions all had deleterious effects in heterozygous condition (Eeken and Sobels). In the mouse, Favor et al. (1989) recorded reduced fitness in heterozygous condition of radiation-induced mutants, but no such fitness effects were observed for ENU-induced mutations.

In man, it is seen that most mutations in genes that code for enzymes, such as inborn errors of metabolism, are recessive. However, mutations in genes that code for non-enzymic proteins, such as collagen, are usually dominant, because half of the required product is not sufficient for normal functioning. Analysis at the molecular level shows that for recessive mutations a number of changes is possible, whereas for dominant mutations this variety is more limited. Little is known about radiation-induced mutations in man. Measurements of haemoglobin mutations in a radiation-exposed population in Brazil, show a dose-dependent increase of Hb-A to Hb-S, that is an AT-->TA transversion. In line with the expectation that dominant mutations come about by a limited array of molecular changes, Favor (1990) found that dominant cataract mutations require about five times the radiation dose than recessive mutations. Since risk estimates for dominant mutations were so far based on induction frequencies of recessive mutations in the mouse, the message is that in reality the risks will be lower than so far has been reported.

MUTAGENICIDAD DE ANALOGOS DEL NIFURTIMOX EN SALMONELLA TYPHIMURIUM

Jurado J., A. Vidal, E. Alejandro-Durán y C. Pueyo

Departamento de Genética: Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.

El nifurtimox (Lampit) es la droga más utilizada en el tratamiento de la tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). Los efectos secundarios que origina el tratamiento, así como la toxicidad que conlleva la utilización de dosis elevadas de este agente quimioterapéutico, han promovido la investigación de nuevos compuestos (análogos del nifurtimox) que igualen o mejoren la actividad contra el agente infeccioso y no comporten riesgos para la salud.

La mutagenicidad de nuevos análogos del nifurtimox, sintetizados por Mester y colaboradores

II REUNION CIENTIFICA DE LA SEMA

(Mester *et al.* Arch. Pharm., 320, 115-120, 1987), se ha ensayado en *Salmonella typhimurium*, estirpes TA98 y TA100 para el ensayo de reversiones a His⁺, y estirpe BA13. para el ensayo de mutaciones directas de resistencia a L-arabinosa. El orden de potencias mutagénicas, salvo excepciones, fue BA13>TA100>TA98.

La mutagenicidad de compuestos con grupos nitro depende en unos casos de una nitroreducción y en otros de una transacetilación. Estirpes bacterianas deficientes en actividad nitroreductasa (TA98NR y TA100NR) o transacetilasa (TA98DNP y TA100DNP) son consecuentemente resistentes a la acción mutagénica de dichos compuestos. Con los análogos del nifurtimox (compuestos con un grupo nitro) y las estirpes TA98, TA98NR, TA98DNP, TA100, TA100NR y TA100DNP, se ha observado dos clases de comportamiento:

a) la mutagenicidad depende de actividad nitroreductasa pero no transacetilasa, o b) la mutagenicidad es independiente de dichas actividades.

La mutación *araD531* fue introducida mediante conjugación en las estirpes TA98, TA98NR, TA98DNP, TA100, TA100NR y TA100DNP con el fin de estudiar el papel de las actividades nitroreductasa y transacetilasa con el ensayo de mutaciones directas de resistencia a L-arabinosa; dichas estirpes se denominan BA14, BA14NR, BA14DNP, BA15, BA15NR y BA15DNP. Adicionalmente se ha aislado una estirpe mutante (BAG13) derivada de la BA13 por resistencia a uno de los análogos del nifurtimox, el compuesto Ig. En la actualidad se está investigando la posible deficiencia en actividad nitroreductasa o/y transacetilasa de dicha estirpe en comparación con las estirpes BA anteriormente descritas.

(Financiación: Junta de Andalucía, Grupo 3136.)

USO DE UNA CEPA DE *DROSOPHILA MELANOGASTER* CON EL ALELO *WHITE-IVORY* TETRAPLICADO COMO SISTEMA DE ENSAYO PARA EL ANALISIS GENOTOXICO

Xamena N., M. Batiste-Alentorn, A. Egido, A. Velázquez, A. Creus y R. Marcos
Unitat de Genètica, Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.

Drosophila melanogaster es uno de los organismos utilizados en los ensayos de mutagénesis, siendo el ensayo de detección de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo el más usado hasta ahora con dicho organismo. Sin embargo, debido a las limitaciones que presenta este ensayo, en estos últimos años se ha potenciado la utilización de ensayos de detección de mutaciones somáticas como una posible alternativa eficaz.

Green y colaboradores (Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 83: 6657-6671, 1986) han desarrollado un ensayo simple y rápido basado en la reversión del alelo recesivo de color de ojos "white-ivory" (*wⁱ*) al fenotipo salvaje (*w⁺*), usando una cepa especial que contiene un cromosoma X con el alelo *xⁱ* tetraplicado, con el fin de aumentar su sensibilidad. El alelo *wⁱ* presenta un fragmento de ADN de 2,9 kb duplicado en tándem. La reversión del fenotipo *wⁱ* al salvaje está asociada a la pérdida de dicho fragmento duplicado. Debido a la ausencia de compensación de dosis, los machos *y² Dp (1:1:1) wⁱ* presentan un color de ojos más oscuro (amarillo anaranjado) que el de los machos *wⁱ* (blanco rosado), así, la pérdida de copias del alelo *wⁱ* se pone de manifiesto por la pérdida de pigmentación de las células afectadas. Los sectores de mayor o menor pigmentación en los ojos de los machos adultos, aparecidos como clones de células mutadas consecuencia de la acción de un mutágeno que ha actuado durante el desarrollo del disco imaginal del ojo en la larva, constituye una medida del efecto genotóxico del compuesto analizado.

Con la finalidad de evaluar la eficacia del sistema *white-ivory* tetraplicado en el análisis genotóxico de compuestos químicos, se han probado cuatro compuestos (agua tritiada, ciclofosfamida, metanosulfonato de etilo y propilenenimina) que dan resultados positivos en otro ensayo de mutaciones somáticas (UZ). Los resultados obtenidos muestran que los cuatro compuestos inducen un incremento significativo de la frecuencia de sectores de color rojo, poniendo de manifiesto que este sistema puede ser considerado potencialmente válido para la evaluación genotóxica.

EVALUACION GENOTOXICA DEL P-DICLOROBENCENO EN *DROSOPHILA* Y EN LINFOCITOS HUMANOS

Carbonell E., M. Puig, A. Velázquez, N. Xamena, A. Creus y R. Marcos

Unitat de Genética, Departament de Genética i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.

El p-diclorobenceno (p-DCB) es un compuesto aromático clorado usado como fungicida y como intermediario en diferentes industrias químicas, del que existe muy poca información sobre su capacidad genotóxica.

Con el fin de ampliar la información sobre su posible genotoxicidad, hemos analizado sus efectos en el ensayo de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo (SLRL) y en el de pérdida de cromosomas sexuales (SCL) en *Drosophila melanogaster*, así como en el ensayo de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) en cultivos de linfocitos de sangre periférica humana de dos donantes sanos.

El p-DCB no produce mutaciones génicas ni cromosómicas en las células germinales postmeióticas de machos de *Drosophila melanogaster*, bajo nuestras condiciones de ensayo. Sin embargo, sí que muestra efectos citotóxicos en linfocitos humanos, puestos de manifiesto por una disminución del índice de proliferación celular (PRI), e incrementa significativamente la frecuencia de SCE a las dos mayores concentraciones probadas (0,1 y 0,2 µg/ml) en los cultivos de ambos donantes.

LA ACROLEINA ES MUTAGENICA EN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Barros A. R., L. M. Sierra, M. García, J. A. Ferreiro y M. A. Comendador

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

La mayoría de los trabajos publicados acerca de la mutagenicidad de la acroleína se han llevado a cabo utilizando el test de Ames o cultivos celulares y existe una gran coincidencia en cuanto a su mutagenicidad en ausencia de activación metabólica. El único trabajo conocido acerca de la mutagenicidad *in vivo* de la acroleína es el publicado por Rapoport en 1948 utilizando *Drosophila melanogaster*. Los resultados de este autor, que desde entonces han venido siendo citados reiteradamente, no han sido comprobados a pesar de la importancia de la acroleína tanto por su amplia utilización industrial como por su papel de agente contaminante.

En este trabajo hemos estudiado la mutagenicidad de la acroleína en *Drosophila melanogaster* tanto en células germinales como somáticas. Los resultados obtenidos muestran que la acroleína no es mutagénica cuando se suministra a adultos a través del alimento. Por el contrario, cuando se utiliza la inyección abdominal este compuesto es positivo en el test de letales recesivos ligados al sexo (SLRL) e inconcluyentes en el test de pérdida de cromosomas sexuales (SCL). La comparación de los resultados del SLRL en F₂ y F₃ parecen indicar un distinto modo de acción de la acroleína según la concentración que se suministre a las moscas. Por otro lado, los resultados de los cocientes SCL/FLRL apuntan hacia la posibilidad de que este compuesto actúe a través de la rotura de cadenas del ADN.

Por último, se realizaron dos tests de mutagenicidad en la línea somática (tests de ojos *w/w** y alas). En ambos los resultados son positivos, pero en el test de alas no se detecta que la acroleína induzca actividad recombinogénica.

ESTUDIO CITOGENETICO DEL PERMETRIN

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

* Instituto de Salud Carlos III. ** Facultad de Veterinaria UCM. *** Instituto de Edafología y Biología Vegetal del CSIC.

Se ensayó el insecticida piretroide permetrin en un rango de concentraciones de 5-100 µg/ml, en linfocitos de sangre periférica para estimar la inducción de intercambios de cromátidas hermanas y

II REUNION CIENTIFICA DE LA SEMA

miconucleos; y en la línea celular establecida CHO, en el rango de concentraciones de 20-500 µg/ml, para estimar la inducción de aberraciones cromosómicas.

Se observó un débil incremento de intercambios de cromátidas hermanas y de miconucleos en el rango de concentraciones de 10 a 50 µg/ml. El permetrin afectó al ciclo celular disminuyendo el índice de proliferación y fue tóxico a la concentración de 100 µg/ml.

En la línea celular CHO no se observó incremento de aberraciones cromosómicas con la concentración de 100 µg/ml y la concentración de 500 µg/ml fue tóxica.

EFFECTO DE UN CAMPO ELECTROMAGNETICO DE 50 HZ SOBRE CROMOSOMAS HUMANOS IN VITRO: ANALISIS DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS

García Sagredo J.M. y P. Cabello

Servicio de Genética Médica, Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Intentamos analizar los efectos de un campo electromagnético (CEM) de baja frecuencia sobre los cromosomas humanos dado que se han descrito efectos biológicos de determinados CEM de 50-60 Hz generados no sólo por líneas de alta tensión, sino también por muchos de los aparatos que se han hecho imprescindibles en el hogar y en el hospital. El estudio se realiza *in vitro* mediante el análisis de intercambios de cromátidas hermanas (ICH).

Se han utilizado linfocitos cultivados procedentes de donantes sanos. Los cultivos de 72 h. han sido expuestos a la acción continua de un CEM de 50 Hz a diferentes niveles de intensidad (70, 145 y 335 µT). Se añadió BdUR durante las 48 h. finales de cada cultivo y, una vez procesados, las extensiones se tiñeron con H-33258 antes de ser expuestas a la luz UV. De cada cultivo se han analizado 50 metafases en 2.^a división para contar los ICH. Todo el trabajo se ha realizado utilizando un sistema semiautomático de análisis cromosómico (Magiscan).

Los resultados no han mostrado diferencias en el número de ICH entre los cultivos que estuvieron bajo la acción del CEM y los cultivos control.

Este estudio muestra que un CEM de 50 Hz a niveles de intensidad similares a los niveles altos de exposición humana ambiental, no tiene efectos citogenéticos detectables en linfocitos humanos *in vitro*.

(Este trabajo ha sido realizado mediante una ayuda del FISS, proyecto n.º 89/0159).

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD DE ACTIVACION METABOLICA DE TRES FRACCIONES DE ZEA MAYS

Riera J., P. Ysern, J. Barbé y M. Llagostera

Departament de Genética i Microbiologia. Fac. Ciències. UAB. Bellaterra (Barcelona).

Hemos demostrado que la fracción S2 de *Zea mays* incrementa la mutagenicidad de productos como el 2-aminofluoreno (2-AF) y la 4-nitro-o-fenilendiamina (NOP). No obstante la preparación de este extracto presenta muchos inconvenientes tanto desde el punto de vista de rendimiento como de su esterilización; así como en su utilización en ensayos colorimétricos basados en la inducción de genes SOS. Por ello se han obtenido las fracciones S9 y S14 y se ha realizado un estudio comparativo con la fracción S2. Se han estudiado parámetros tales como: aumento de la activación del NOP según el método de Ames, aumento de la reversión espontánea en las cepas TA98 y TA100, contenido proteico y actividad peroxidasa global. Los resultados obtenidos indican que tanto la fracción S9 como la S14 pueden ser utilizadas en lugar de la fracción S2 en ensayos de genotoxicidad bacterianos.

COMPARACION DE LA ACTIVACION METABOLICA PRODUCIDA POR EXTRACTOS DE ZEA MAYS Y DE HIGADO DE RATA

Ysern P., J. Riera, J. Barbé y M. Llagostera

Departament de Genética i Microbiologia. Fac. Ciéncies. UAB. Bellaterra (Barcelona).

Se han estudiado la capacidad de activación metabólica de la fracción S2 de *Zea mays* y de la fracción S9 de hígado de rata. Para ello se han realizado ensayos en paralelo utilizando el test de Ames con las cepas TA98 y TA100. Los compuestos ensayados han sido 4-nitro-o-fenilendiamina, benzo(a)pireno, 2-acetilaminofluoreno, 2-aminofluoreno y varios plaguicidas.

Los resultados demuestran diferencias en la capacidad activadora de ambas fracciones. Así mientras el β (a)P y el 2AAF sólo son activados por la fracción S9, el Ziram lo es únicamente por la S2. El NOP -mutágeno directo- incrementa su potencial mutagénico con la S2 mientras que la fracción S9 lo disminuye.

Estos resultados ponen de relieve el interés de utilizar extractos de plantas en el estudio de la mutagenicidad debida a plaguicidas.

METODO DE PREPARACION Y TRATAMIENTO DE AGUAS SUPERFICIALES PARA SU ESTUDIO MUTAGENICO

Beringola M.^a, M. T. Pollastrini, M. Barea y J. Salas

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

Son muchos los contaminantes químicos presentes en las aguas superficiales que pueden suponer un riesgo para la salud del hombre o tener una repercusión negativa sobre el Medio Ambiente. Los contaminantes pueden ser genotóxicos, sea de forma aislada, así como formando complejas mezclas que pueden producir un sinergismo, aumentando el poder mutagénico de los mismos. Especialmente importantes son los compuestos orgánicos en las aguas que proceden de vertidos, industrias, pesticidas, etc. cuyos efectos carcinógeno/mutagénicos están ampliamente reconocidos (Cheh y cols. 1979, Cumming 1979).

Las bajas concentraciones en que se encuentran estos compuestos orgánicos requieren el tratamiento de las muestras. De las diferentes técnicas existentes para ello, como la resina XAD-2, filtros de membrana, incorporación directa de la muestra a los medios de cultivo, evaporación (Dutka y cols. 1981) y concentración mediante minicolumnas, (Wolkoff y cols. 1981) hemos elegido la última técnica debido a su alto poder de concentración, reproductibilidad en condiciones de manejo constantes y comodidad en la preparación de la muestra ya que se necesita un menor volumen de la misma, así como de los eluyentes orgánicos utilizados.

CONSIDERACIONES Y CRITERIOS DE GENOTOXICIDAD PARA LA CARACTERIZACION DE VERTIDOS Y RESIDUOS

De la Fuente L., J. Salas, M. L. Beringola y C. Rubio

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

Recientemente se han incorporado al ordenamiento legislativo español Ordenes y Decretos adaptándonos, en materia de residuos tóxicos y vertidos de sustancias peligrosas al medio acuático, a las directrices de la CEE. Estas legislaciones determinan los criterios de caracterización toxicológica de los vertidos (BOE 30/IV/86 a 11/XI/89) y residuos (BOE 10/XI/89). Desde nuestro punto de vista estas transposiciones legislativas no están correctamente realizadas (residuos) y son carentes de

II REUNION CIENTIFICA DE LA SEMA

critérios precisos en materia de genotoxicidad en particular en cuanto a mutagénesis/carcinogénesis se refiere.

El propósito de esta comunicación es señalar los puntos concretos donde la transposición es errónea y definir unos criterios de evaluación genotóxica de residuos y vertidos, adecuadas a la realidad científica y legislativa en diversos Organismos Internacionales (CEE, OCDE, EPA, etc.).

METODOLOGIA PARA EL CONTROL DE TRABAJADORES EXPUESTOS A SUSTANCIAS MUTAGENICAS: EL FACTOR TABAQUISMO

Huici A., L. Regidor y X. Solans

Centro Nacional de condiciones de trabajo del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo. C/Dulcet, s/n. -08034- Barcelona.

La determinación de la mutagenicidad urinaria como indicador de absorción de sustancias cancerígenas presenta un gran interés en la identificación de poblaciones expuestas laboralmente. El consumo de tabaco y la consiguiente excreción de metabolitos mutagénicos constituye uno de los factores a tener en cuenta en la evaluación de riesgo genotóxico. Para su estudio cinético, se ha puesto a punto en nuestro laboratorio del CNCT de Barcelona del INSHT un método de determinación de mutagenicidad urinaria mediante *Salmonella typhimurium*, estableciéndose las variaciones de la misma durante una exposición constante, después de su cese y al ser restablecida dicha exposición.

Se discuten las adaptaciones metodológicas realizadas, así como las respuestas obtenidas con las cepas TA98 y TA100, cuyo valor máximo se obtiene al final de la exposición, disminuyendo lentamente al ser ésta suprimida.

CRITERIOS Y DEFINICION EN LA CLASIFICACION DE SUSTANCIAS MUTAGENICAS EN LA CEE

Salas J., C. Rubio, M. T. Pollastrini, L. de la Fuente y M. Barea.

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

El grupo de Expertos Especialistas de la CEE, en "Clasificación y Definición de Categorías de las Sustancias Carcinogénicas, Teratogénicas y Mutagénicas" tendrá su próxima Reunión durante los días 28, 29 y 30/Marzo/1990, donde se discutirán los criterios, definiciones y nueva clasificación de las sustancias químicas mutagénicas. Tenemos la intención de exponer ante la Reunión de nuestra Sociedad Española de Mutagénesis las decisiones y discusiones finales a las que dicho Grupo en la clasificación de éstas llegue, así como, los ensayos que se deben seleccionar, valorar y evaluar para el estudio toxicológico de una sustancia desde el punto de vista mutagénico.