

HIGIENE Y SANIDAD AMBIENTAL

Hig. Sanid. Ambient. **2**: 26-32 (2002)

Dirección

Prof. Miguel Espigares García

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.
Campus Universitario de Cartuja. 18071 Granada, España. Telf: 958 243 169. Fax: 958 249 958. E-mail:
mespigar@ugr.es

Comité de redacción

Prof. Milagros Fernández-Crehuet Navajas. E-mail: fcrehuet@ugr.es

Prof. Pablo Lardelli Claret. E-mail: lardelli@ugr.es

Prof. Obdulia Moreno Abril. E-mail: omoreno@ugr.es

Prof. José Antonio Pérez López. E-mail: japerez@ugr.es

Redacción

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.
Campus Universitario de Cartuja. 18071 Granada, España. Telf: 958 243 169. Fax: 958 249 958. Email:
mespigar@ugr.es

Depósito legal GR-222/2002

ISSN 1579-1734

Higiene y Sanidad Ambiental es una revista electrónica en español, de difusión gratuita, que publica trabajos de investigación originales, revisiones y procedimientos técnicos, con un contenido relativo al área científica de Higiene y Sanidad Ambiental: criterios de calidad ambiental; contaminación de agua, aire y suelo; análisis de riesgos y exposición ambiental, industrial y laboral; epidemiología ambiental; técnicas de saneamiento; higiene de los alimentos; higiene hospitalaria; antibióticos, desinfección y esterilización; tratamiento de aguas y residuos sólidos; etc. También podrán ser publicados artículos relativos a la docencia universitaria de estos contenidos.

Los artículos para la publicación en la revista *Higiene y Sanidad Ambiental*, deben ser enviados a la Dirección de la revista en soporte electrónico con formato de Microsoft Word (o compatible), con un estilo editorial internacionalmente aceptado en las publicaciones científicas (título, resumen, palabras clave, introducción, material y métodos, resultados, discusión, bibliografía, etc.).

Las suscripciones a la revista *Higiene y Sanidad Ambiental* son gratuitas y se pueden realizar mediante el envío de un correo electrónico dirigido a la Dirección o Comité de Redacción.

Técnicas de estudio de la mutagenicidad

O. Moreno Abril y E. Carrillo Gallego

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Farmacia. Campus Universitario de Cartuja. 18071. Granada. España. Tel. 958 243 169. Fax. 958 249 958. E-mail: omoreno@ugr.es

CONCEPTO Y TIPOS DE MUTAGÉNESIS

El entorno ambiental que rodea al hombre ha cambiado y está cambiando drásticamente en el último siglo. Estos cambios, debidos en gran parte a la propia intervención humana, presentan riesgos genéticos potenciales. Determinadas actividades del hombre, como es el empleo de la energía radioactiva, los alimentos y aditivos consumidos a diario, la utilización de pesticidas en la agricultura y los productos contaminantes directa o indirectamente producidos en la industria, pueden generar mutágenos más o menos poderosos.

La mutagénesis es la fuente más importante de la variabilidad biológica que conduce a la evolución de las especies. La expresión fenotípica de las mutaciones puede provocar cambios morfológicos y fisiológicos muy grandes.

Las mutaciones se pueden clasificar según:

a) Sus efectos:

Morfológicas: afectan las propiedades del organismo visibles exteriormente, como el color, la talla, la forma.

Letales: afectan la viabilidad de los organismos y pueden ser dominantes, recesivos o semiletales.

Condicionales: solo se expresan en condiciones restrictivas.

Bioquímicas: producen deficiencias metabólicas que pueden corregirse cambiando las condiciones del medio.

De resistencia: confieren la capacidad de desarrollarse en presencia de agentes patógenos o de compuestos inhibidores como los antibióticos.

b) Según las células diana:

Somáticas: el cambio sólo afecta al individuo y, por tanto, no se transmitirá a su descendencia, desapareciendo de la

población con la muerte del propio individuo en la que apareció, a no ser que la especie considerada tenga reproducción vegetativa.

Geminales: en las especies con reproducción sexual, la mutación que afecta a la línea celular germinal puede ser transmitida por los gametos a la descendencia, perpetuándose en la población y originando individuos que llevan la mutación, tanto en sus células somáticas como germinales.

c) Según el nivel de afectación:

Cromosómicas o génicas: en el primer caso afectan al número y/o a la estructura de los cromosomas y en el segundo afectan a los genes.

d) Según el mecanismo de producción:

Espontáneas: la variabilidad genética producida en las poblaciones naturales se debe a posibles errores ocurridos a escala molecular, por ejemplo durante la replicación de la molécula de ADN, así como a la acción del medio ambiente sobre el ADN. A este tipo de cambios no dirigidos ni intencionados ni influenciados por la mano del hombre se les llama mutaciones espontáneas.

Inducidas: aquellas que están producidas directa o indirectamente, con intención o sin ella, por intervención humana. En muchas ocasiones, el hombre realiza tratamientos experimentales con el propósito claro y definido de inducir mutaciones en los seres vivos con el fin de llevar a cabo estudios de genética básica o aplicada. Sin embargo, en otras ocasiones, la mutagénesis se induce por la acción de agentes físicos o químicos producidos y utilizados por la nueva tecnología y que resultan ser poderosos mutágenos y/o carcinógenos.

Las mutaciones ocurren al azar en cualquier momento, y la tasa de mutación espontánea normalmente es muy baja, aunque se incrementa por la acción de una amplia variedad de agentes entre los que se incluyen los carcinógenos que interactúan directamente con el ADN.

Los mutágenos son agentes físicos o químicos capaces de inducir en los seres vivos varias clases de cambios heredables deletéreos o benéficos. La exposición a ellos incrementa las frecuencias de mutación por encima de la basal. Generalmente la frecuencia inducida está en proporción directa a la dosis del mutágeno aplicado, aunque pueden presentarse patrones más complejos de dosis-respuesta.

Varios tipos de alteraciones estructurales o defectos producidos en el ADN por mutágenos pueden dar lugar a la muerte celular o a muchos tipos de mutación. La sensibilidad celular de estos efectos depende de la naturaleza del mutágeno, de la constitución genética de las células y de su estado fisiológico antes, durante o después de la exposición. Algunos mutágenos, como la radiación ionizante y la ultravioleta, pueden atacar al ADN directamente al igual que ciertos compuestos químicos, aunque algunos de ellos tienen que ser convertidos enzimáticamente en compuestos activos. Entre los de acción indirecta hay muchos carcinógenos bien conocidos. La activación puede ser una consecuencia de los procesos de detoxificación que se llevan a cabo en los organismos.

El que una célula expuesta a un mutágeno activo sobreviva, se reproduzca y su progenie porte mutantes, depende no sólo del número de cambios estructurales producidos en el ADN, sino también de su naturaleza y de la eficiencia celular para reparar el daño.

AGENTES MUTAGÉNICOS

El ADN puede ser lesionado tanto por agentes físicos (ej. radiaciones) y químicos, como por productos del metabolismo celular (ej. radicales libres). En este proceso de lesión influyen multitud de variables, que engloban desde el estado de contaminación del medio ambiente a sustancias electrofílicamente reactivas al ADN. Así, se han identificado algunos agentes químicos y grupos capaces de interactuar en las células como macromoléculas vitales, entre los que se incluyen a los pesticidas, los metales, los aditivos de alimentos y los derivados de la combustión incompleta de productos energéticos (el carbón y las gasolinas).

La contaminación artificial, es decir la producida por el hombre, ha generado una gran cantidad de compuestos reactivos que están presentes en la biosfera como resultado de los procesos industriales y de la combustión incompleta de las fuentes energéticas. Así, en términos generales, la contaminación artificial se origina por las complejas

y muy variadas interrelaciones del hombre con su medio.

La contaminación ambiental ha ido ligada al desarrollo y a la tecnología del mundo moderno. Los procesos industriales utilizan agua y energía en grandes cantidades y las fábricas emiten desechos que descargan al aire y al agua. Estos desechos suelen contener contaminantes primarios que en la biosfera se concentran o reaccionan con otros elementos, produciéndose así contaminantes secundarios. Las fuentes de energía, carbón y gasolinas, son fuentes adicionales de contaminación.

Las aguas residuales generadas por las industrias es frecuente la presencia de sustancias tóxicas, elementos radiactivos, etc. Un ejemplo de envenenamiento debido a la producción y uso de productos industriales que contienen metales, fue el ocurrido en Japón. Se debió a la emisión de metilmercurio en la bahía de Minamata y el río Agano, y posterior acumulación en peces comestibles. Se produjeron alteraciones neurológicas en 1.500 personas, de las que 240 murieron.

La actividades agrícolas también ha generado una alteración debida a la presencia de herbicidas, pesticidas, sales, restos de fertilizantes y una fuerte carga de sólidos.

La utilización de pesticidas fue la responsable de la revolución verde, al permitir la erradicación de plagas para los cultivos con valor alimenticio. Su empleo también ha permitido el control de insectos responsables de epidemias severas, como la malaria y ciertas encefalitis. Sin embargo, su uso indiscriminado ha provocado graves desórdenes ecológicos en el planeta. En los años setenta se reconoció el daño que provoca la utilización a gran escala de estos productos químicos, no sólo en el ambiente sino en la salud pública, lo que provocó que se promulgaran leyes que regulan la producción, distribución y uso de agroquímicos. Aunque los pesticidas suelen ser selectivos para el organismo que combaten, también son nocivos (aunque en menor grado) para otras especies. En el hombre son tóxicos tanto por envenenamiento accidental agudo, como por exposiciones crónicas. Por ejemplo, en los trabajadores expuestos durante la producción de estas sustancias, o durante el trabajo en el campo, la contaminación por pesticidas se debe al uso inapropiado y a la falta de medidas de protección. En el momento actual los seres humanos estamos expuestos a la acción de pesticidas, ya que existen residuos de éstos en los alimentos que a diario ingerimos (Laborda, 1982).

La exposición del hombre a diversos metales en cantidades elevadas, se debe a distintas fuentes alimenticias, a la inhalación, o a la ingestión en el agua de consumo. Su origen puede ser diverso: por altas concentraciones naturales, la contaminación de las fuentes, el empleo de utensilios de cocina metálicos, y la persistencia y bioconcentración de metales empleados como pesticidas.

También hemos de considerar el alimento, que a diario consumimos, como una mezcla compleja de sustancias, donde coexisten nutrientes y otros compuestos que se añaden con el propósito de conservar el alimento y que, en principio, no tienen valor nutritivo. Así, puede haber mutágenos y antimutágenos de origen tanto natural como artificial (por ejemplo, residuos de pesticidas en frutas y hortalizas).

MEDIDA DE LA MUTAGENICIDAD

El planteamiento científico de la prospección de mutágenos ambientales a escala internacional cristalizó inicialmente en la creación en marzo de 1969 de la Environmental Mutagen Society (E.M.S.), siendo una de las tareas iniciales, la creación del Environmental Mutagen Information Center (E.M.I.C.) para recopilar y facilitar el acceso de los investigadores a la dispersa información bibliográfica. Más tarde, otros organismos y organizaciones dictaron o propusieron normativas de diferentes rangos legales en relación con el control de los mutágenos ambientales; así, se pueden citar la C.E.E. (Comunidad Económica Europea, 1979; Comunidad Económica Europea, 1984), la O.C.D.E. (Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos, 1981), la I.C.P.E.M.C. (International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens, 1982, 1983a y 1983b), la I.A.R.C. (International Agency for Research on Cancer, 1982) y la I.P.C.S. (International Programme on Chemical Safety, 1985), etc.

Como señala Malling (1972), las sustancias químicas que hay que probar son numerosas, por lo que sería conveniente establecer unas prioridades que podrían basarse en los siguientes criterios generales:

- 1º) ¿En qué grado está expuesta la población humana a un determinado compuesto químico?
- 2º) ¿Qué se sabe ya de sus efectos genéticos?
- 3º) ¿Existen pruebas circunstanciales de efectos biológicos que pudieran indicar actividad mutagénica?
- 4º) ¿Se conoce algún compuesto químico relacionado con él que sea mutagénico?
- 5º) ¿Tiene metabolitos que pudieran tener actividad mutagénica?

Para permitir a los responsables de la comercialización y a las autoridades gubernamentales estimar los riesgos de nuevas sustancias, los fabricantes e importadores deben realizar una serie de ensayos de complejidad creciente, de acuerdo con la cantidad anual de compuesto químico producido o importado. Este sistema gradual de ensayos se basa en el criterio de que cuanto mayores sean las cantidades de producto en el mercado más extensas deben ser las pruebas, puesto que el riesgo es cuantitativamente mayor. Los datos obtenidos de un juego básico de ensayos toxicológicos pueden dar información suficiente sobre la toxicidad potencial de

los productos químicos para asegurar la seguridad. Las sustancias que son producidas en cantidades importantes, transportadas y usadas por compañías diversas, necesitan un mejor conocimiento de posibles riesgos, por la exposición del consumidor y la posibilidad de contaminación ambiental.

A la hora de abordar experimentalmente el problema de la mutagénesis no hay duda que el enfoque último está dirigido a la propia especie humana. Ahora bien, la experimentación con material humano *in vivo* no es factible y la utilización de los mamíferos como especies experimentales más afines al hombre resulta muchas veces un proceso largo y costoso, sobre todo teniendo en cuenta que se trata de ensayar gran número de posibles mutágenos. Considerando que el proceso mutacional en el material hereditario humano responde a una misma base molecular con respecto a microorganismos como las bacterias o los hongos resulta lógico tratar de desarrollar técnicas experimentales que permitan detectar los efectos mutagénicos sobre tales organismos más simples; así se han descrito dichas técnicas en bacterias y hongos.

Sin embargo, la cuestión surge enseguida: ¿el que una sustancia resulte mutágena para determinadas estirpes bacterianas o de hongos permite extrapolar su acción mutagénica en el hombre?. O, por el contrario, si el resultado es negativo en las experiencias con microorganismos, ¿quiere ello decir que se puede dar luz verde a la utilización de tal producto admitiendo su inocuidad para la especie humana?. ¿Es que, acaso, el propio metabolismo humano no puede inactivar la toxicidad de un compuesto que resulta mutágeno para la célula bacteriana o, recíprocamente, producir algún metabolito tóxico a partir de un compuesto inocuo para el microorganismo?. La problemática que plantean estos interrogantes ha sido abordada mediante dos tipos de técnicas: la prueba mediada por un huésped, *host-mediated assay*, (Gabridge y Legator, 1969) y la prueba *Salmonella/microsoma* de Ames (Ames y cols., 1973).

En la prueba de *Salmonella/microsoma* (Ames, 1973; Ames, 1975), incorporan al medio de cultivo el supuesto mutágeno a ensayar, la cepa y un extracto de células de mamífero, de manera que en el sistema *in vitro* el metabolismo celular animal pueda actuar sobre el mutágeno potencial, dando así una idea de su posible actuación *in vivo*. En el caso del tabaco resulta enormemente significativo. Se ha demostrado que los condensados de humo de tabaco no tenían actividad mutagénica alguna sobre cultivos de *Salmonella typhimurium*, sin embargo, al añadir al medio de cultivo extractos de células de pulmón o de hígado se comprobó que el condensado de humo de tabaco se comportaba como un poderoso mutágeno. Esto significa que nuestro propio metabolismo celular puede convertir la costumbre de fumar en una fábrica de componentes mutágenos y, quizá, cancerígenos.

Dentro del estudio de los mutágenos químicos es necesario hacer referencia a su posible acción cancerígena y teratógena. Aunque en un principio no se aceptó una relación clara entre los agentes mutágenos y los carcinógenos, hoy se estima que la mayoría de los carcinógenos tienen actividad mutagénica. Así, por ejemplo, el equipo de Ames (1973), demostraron que un 90% de los carcinógenos ensayados en *Salmonella typhimurium* resultaron mutágenos. ¿Será cierta la relación inversa?. De hecho, algunos autores la aceptan ya que una de las causas determinantes del cáncer son las mutaciones somáticas.

Mediante modelos biológicos es posible determinar las relaciones dosis-respuesta, calcular la exposición y tomar medidas administrativas y políticas ambientales apropiadas para el manejo de sustancias químicas en el mercado. Debido a este hecho, los ensayos de mutagénesis son de gran utilidad para detectar agentes carcinogénicos.

La Organización para la Economía Co-Operación y Desarrollo (O.E.C.D.) y la Comisión Internacional en Armonización (I.C.H.), han desarrollado una serie de normas internacionales para asegurar la uniformidad de los procedimientos de los test prioritarios de obtención de información para las agencias reguladoras de registro de muchas sustancias químicas, incluyendo biocidas y fármacos. La Fundación Americana de Salud, mediante el estudio de Weisburger (2001), ha realizado un recorrido sobre la respuesta antimutagénica y anticarcinogénica desde el pasado hasta la actualidad, y concluyeron que la sensibilidad de las pruebas para detectar la reactividad de ADN en un organismo procariótico (como el Test de Ames), y para ver la reparación de ADN en un sistema eucariótico (como el uso de células explantadas, según el método de Williams), están por encima del 90%.

El *Ensayo de Mutagenicidad de Ames Salmonella/microsoma*, también conocido como *Salmonella Test* o *Ames Test* (Ames y cols., 1973; Ames y cols., 1975), fue específicamente diseñado para detectar sustancias químicas que inducían mutagénesis y se usa para la valoración inicial de nuevas sustancias químicas y fármacos, porque da un alto valor predictivo. Este test, está basado en la reversión de la mutación bacteriana de cepas de *Salmonella typhimurium* específicamente diseñadas para detectar un amplio rango de sustancias químicas que pueden, tanto producir daño genético como dirigir la mutación de genes. Son cepas histidina dependientes (his -), las cuales llevan diferentes mutaciones en distintos genes del operón de la histidina, que le impiden la síntesis de ese aminoácido y el crecimiento y formación de colonias en su ausencia. Estas mutaciones actúan como puntos calientes para mutágenos que causan daño en el ADN por distintos mecanismos. Así, nuevas mutaciones en la proximidad de estos puntos, pueden restaurar la funcionalidad de esos genes y llevar a las células a

synetizar histidina. Estas nuevas células mutantes (his +) pueden crecer en ausencia de histidina y formar colonias. Por esta razón, el test es a veces referido como un *Ensayo de Reversión*.

APLICACIONES DEL TEST DE MUTAGENICIDAD

Debido a los cambios en la relación del hombre con su medio, se hace necesario detectar si determinados fármacos, alimentos, o agentes con los que estamos en contacto diariamente, son capaces de producir algún tipo de respuesta mutagénica, así como encontrar sustancias que disminuyan ésta. Así el test de mutagenicidad tiene diversas aplicaciones en distintos campos:

Aplicaciones sanitarias

La incidencia de carcinomas celulares en el tracto respiratorio y digestivo ha aumentado mundialmente. Los factores de riesgo principales son el consumo de alcohol y tabaco de manera crónica. El descubrimiento de personas de alto riesgo es importante porque el diagnóstico temprano de estos tumores mantiene una posibilidad mayor de curación. Bloching y cols. (2001), muestra que el test de Ames en saliva puede usarse para mostrar los efectos genotóxicos de ambos. En combinación con otros biomarcadores, esta prueba puede ayudar a desarrollar un protocolo válido para descubrir el riesgo de padecer cáncer en las personas susceptibles expuestas.

En el caso del carcinoma gástrico, la infección de *Helicobacter pylori* se ha reconocido como un factor de riesgo importante. Kaneko y cols. (2000) probaron la mutagenicidad de la bacteria y del fluido sobrenadante gástricos, siendo el número de revertidos del sobrenadante más alto que el de la pelotilla bacteriana. Los resultados no revelan mutagenicidad pero la diferencia entre ambos podría reflejar las diferencias genotóxicas.

Aplicaciones industriales

La prueba de Ames se usa ampliamente por las agencias reguladoras, instituciones académicas y compañías químicas para evaluar el potencial mutagénico de compuestos crudos. No obstante, algunas grandes industrias encuentran dificultades para la puesta a punto del test de mutagenicidad. Flamand y cols. (2001) describen una versión reducida que permite una disminución significativa de la cantidad necesaria de sustancia a ensayar (300 mg.), lo cual era una limitación para la batería de cepas usadas. La sensibilidad y capacidad predictiva conseguida es similar con la prueba de Ames tradicional. Esto ha hecho que su uso se extienda tanto en la industria farmacéutica como alimentaria. Así Camoirano y cols. (2001), estudiaron la

genotoxicidad del fármaco Oltipraz^R [5-(2-pirazinil)-4-metilo-1,2-ditio-3-tiona], observándose la ausencia de genotoxicidad en la población estudiada, y quedó también demostrada la validez del ensayo de mutagenicidad en orina como biomarcador de la exposición al humo del tabaco.

Sasaki y cols. (2000) estudiaron la genotoxicidad *in vitro* e *in vivo*, en ocho órganos de ratón, de 208 químicos seleccionados de la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (I.A.R.C.) y del Programa de Toxicología Nacional Americano (N.T.P.). Como está claro que ninguna sola prueba es capaz de descubrir a todos los agentes genotóxicos pertinentes, el acercamiento usual debe ser una batería *in vitro* (Test de Ames) y pruebas *in vivo* (medir lesiones orgánicas mediante Ensayo Comet¹). Así, Placidi y cols. (2001) realizaron ambas técnicas para probar dos fármacos y dos profármacos nucleósidos de purina que exhibían una potente y selectiva actividad anti-hepatitis B *in vitro*. Ninguno de los cuatro compuestos indujo la rotura de las hebras de ADN. En la misma línea, Hartmann y cols. (2001) midieron el potencial genotóxico de una serie de compuestos farmacéuticos mediante Ensayo Comet y el Test de Ames, encontrando un grado alto de concordancia entre los resultados de ambos. Se vio la conveniencia de ambos ensayos en la comprobación de nuevos químicos en la rutina industrial.

Hay una serie de sustancias que se emplean en el campo de la alimentación y de la farmacia, como es el caso de los polisacáridos hidrosolubles extraídos del hongo *Hericium erinaceus*, un hongo que crece en los bosques de árboles de madera dura en ciertas regiones de Europa Central y de Asia, y que han demostrado su valía en la dieta y en el tratamiento médico por la presencia de dichos polisacáridos hidrosolubles, al mejorar la inmunidad y mostrar efectos antimetastásicos pulmonares. Wang y cols. (2001) examinaron el micelio y el cuerpo fructificado de *Hericium erinaceus*, para ver si éste ejercía actividad antimutagénica contra 5 mutágenos: aflatoxina B1 (AFB1), benzo-alfa-pireno (B[a]P), N-óxido-4-nitroquinolina (NQNO) y las aminas heterocíclicas 2-amino-6-metil dipirido(1,2-a:3'2'-d) imidazol, o (Glu-P-1), y 3-amino-1,4-dimetil-5H-pirido (4,3-b) indol, o (Trp-P-1). Encontraron que ambos extractos poseen la mayor actividad antimutagénica contra Trp-P-1, seguido por Glu-P-1, B[a]P, AFB1, y finalmente NQNO, y además esa respuesta antimutagénica se produjo de una manera dependiente a la concentración. En esta misma línea se ha empleado la miltiorrizza de la salvia en la medicina china tradicional con efectos anticancerígenos reconocidos. Chen y cols. (2001)

¹ El ensayo comet es una técnica que se aplica para descubrir genotoxicidad en animales experimentales; la ventaja más importante es que lesiones de ADN pueden medirse en cualquier órgano, sin tener en cuenta la magnitud de actividad mitótica.

synetizaron un análogo fenólico simplificado de uno de los compuestos activos de ésta y exploraron sus posibles acciones previniendo el desarrollo de cáncer. Se observó la supresión eficaz de la mutagenicidad del benzo[alfa]pireno.

En la industria de los alimentos, debido a la forma de preparar los alimentos y a los conservantes adicionados en los productos de conserva o a los que se desea alargar la caducidad, es necesario estudiar estos alimentos debido a la alta exposición a la que el hombre está sometido en la sociedad actual.

Kato y cols. (2001) estudiaron el efecto de añadir azúcares a la carne picada de las hamburguesas. El azúcar en el interior de la carne picada fue estimado sobre 0.07%. La mutagenicidad se aumentó más de dos puntos al adicionar glucosa, fructosa o lactosa al 0.08% y disminuyó a la mitad al añadir cada uno de los azúcares al 0.67%, mientras que no se influenció por la adición de sacarosa en esos mismos rangos. Según estos datos se puede concluir que reducir el azúcar en la carne picada podría ser una manera simple de regular las trazas de mutagenicidad de las hamburguesas cocinadas.

El ácido sórbico (E 200) y sus sales (sorbato de potasio y de calcio: E 202 y E 203) son usados como conservantes en numerosas comidas procesadas. Bajo las condiciones de procesamiento de alimentos (50-80°C), Ferrand y cols. (2000) analizaron los derivados cíclicos resultado de una reacción doble entre el ácido sórbico y varias aminas. Estudios de mutagénesis mediante la prueba de Ames y de genotoxicidad con células HeLa, mostraron que ninguno de los productos estudiados presentaban mutagenicidad o actividad genotóxica.

Los efectos mutagénicos y carcinogénicos del sesamol, un compuesto fenólico responsable de la resistencia alta al deterioro oxidativo del aceite de sésamo, fueron estudiados por Kaur y Saini (2000). Se indujo mutagenicidad en las cepas mediante la generación en el medio de radicales oxígeno por el terc-butilhidroperóxido (el t-BOOH) o peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Tras la aplicación del sesamol, la respuesta antimutagénica se atribuyó a sus propiedades antioxidantes. Como las especies de oxígeno activo están envueltas en los procesos de carcinogenicidad, se cree que este compuesto también pueda exhibir esta propiedad.

Mediante un modelo gastrointestinal *in vitro* que simula las condiciones en el tracto digestivo humano, Krul y cols. (2001) determinaron la actividad antimutagénica de extractos de té negro y té verde. La inhibición máxima resultó moderada tras 2 horas de experimento y era comparable para el té negro y para el extracto de té verde. Cuando se añadió en el modelo un desayuno homogeneizado junto con el extracto de té negro, la actividad antimutagénica resultaba completamente anulada y concluyeron que esa reducción en la actividad antimutagénica se correspondía con la disminución

en la capacidad antioxidante y con una disminución de la concentración de tres catequinas determinadas.

Aplicaciones ecológicas

Este tipo de medidas se hacen necesarias debido a la influencia del medio ambiente con la calidad de vida de cada país. Distintos estudios realizados abarcan desde el estado de los distintos tipos de aguas y suelos hasta el análisis de partículas aerotransportadas.

Se analizaron distintos extractos orgánicos de aguas crudas, tratadas y de bebida, procedentes de siete plantas de tratamiento en cinco ciudades en Corea. Los resultados de Park y cols. (2001) indican que la mutagenicidad bacteriana de aguas tratadas y de bebida pueden derivarse de la desinfección con cloro en las plantas de tratamiento de agua, pero que esta mutagenicidad puede limitarse en los humanos debido al metabolismo enzimático.

Hirokazu (2000) establece un nuevo índice de calidad del agua, el *potencial de formación mutágena* (MFP) para el agua de bebida que contiene agentes capaces de formar mutágenos cuando se clora bajo condiciones usadas en los procedimientos de purificación de aguas. Para hallar dicho índice, tras un tratamiento inicial de tales aguas, se evalúan con el Test de Ames.

La producción y el manejo de municiones contaminan la tierra en los medios militares. Dependiendo de las concentraciones, estas tierras producen reactividad, riesgo de toxicidad y potencial contaminación de las aguas subterráneas. Por ello, George y cols. (2001) examinaron muchos químicos relacionados con las municiones frecuentes en estos medios militares para ver si existe mutagenicidad. Concluyen que, al estar los metabolitos presentes en concentraciones medioambientales bajas, no pueden dar resultados positivos y que se necesitaría incrementar la sensibilidad o incluso usar otro método además del Test de Ames.

Monarca y cols. (2001), estudiaron la posible presencia de compuestos contaminantes aerotransportados mutagénicos/carcinogénicos en la industria del caucho, examinando partículas inhalables procedentes de cuatro fábricas mediante el Test de Ames, como prueba de mutagenicidad, y el Ensayo Comet, por si existían alteraciones del ADN perjudiciales en los leucocitos humanos. Los resultados fueron negativos en su mayoría. Por otro lado, mediante los ensayos anteriores, Buschini y cols. (2001) investigaron la genotoxicidad de distintos tamaños de partículas aerotransportadas en ciudad, siendo los resultados también bastante tranquilizadores.

BIBLIOGRAFÍA

Ames B.N., Lee F.D. y Durston W.E. (1973): An improved bacterial test system for de detection

and classification of mutagens and carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 70: 782-786.

Ames B.N., McCann J. y Yamasaki E. (1975): Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mut. Res.*, 31: 347-364.

Bloching M., Stephan D., Agha-Mir-Salim P., Berghaus A., Lautenschlager C. y Grummt T. (2001): Ames test as biomarker. *HNO*, 49(6):440-446.

Buschini A., Cassoni F., Anceschi E., Pasini L., Poli P. y Rossi C. (2001): Urban airborne particulate: genotoxicity evaluation of different size fractions by mutagenesis tests on microorganisms and comet assay. *Chemosphere*, 44(8): 1723-1736.

Camoirano A., Bagnasco M., Bennicelli C., Cartiglia C., Wang J.B., Zhang B.C., Zhu Y.R., Qian G.S., Egner P.A., Jacobson L.P., Kensler T.W. y De Flora S. (2001): Oltipraz chemoprevention trial in Qidong, People's Republic of China: results of urine genotoxicity assays as related to smoking habits. *Cancer Epidem. Biomar.*, 10(7): 775-783.

Chen X.G., Li Y., Yan C.H., Li L.N. y Han R. (2001): Cancer chemo-preventive activities of S-3-1, a synthetic derivative of danshinone. *J. Asian Nat.Prod. Res.*, 3(1): 63-75.

Ferrand C., Marc F., Fritsch P., Cassand P. y de Saint Blanquat G. (2000): Mutagenicity and genotoxicity of sorbic acid-amine reaction products. *Food Addit. Contam.* 17(11): 895-901.

Flamand N., Meunier J., Meunier P. y Agapakis-Cause C. (2001): Mini mutagenicity test: a miniaturized version of the Ames test used in a prescreening assay for point mutagenesis assessment. *Toxicol. In Vitro* 15(2): 105-114.

Gabridge MG. y Legator MS. (1969): A host-mediated microbial assay for the detection of mutagenic compounds. *Proc Soc Exp Biol Med* 130(3): 831-834.

George S.E., Huggins-Clark G. y Brooks L.R. (2001): Use of a *Salmonella* micro-suspension bioassay to detect the mutagenicity of munitions compounds at low concentrations. *Mutat. Res.*, 490(1): 45-56.

Hartmann A., Elhajouji A., Kiskinis E., Poetter F., Martus H., Fjallman A., Frieauff W. y Suter W. (2001): Use of the alkaline comet assay for industrial genotoxicity screening: comparative investigation with the micronucleus test. *Food Chem. Toxicol.*, 39(8): 843-858.

Hirokazu T., Kohei U., Makoto H., Tadashi H. y Shinichiro O. (2000): Method for measuring Mutagen Formation Potencial (MFP) on

- chlorination as a new water quality index. *Wat. Res.* 35(7): 1627-1634.
- Kaneko T., Kawakami Y., Akaimatsu T., Kiyosawa K. y Katsuyama T. (2000): Mutagenicity of *Helicobacter pylori* in the Ames test using *Salmonella typhimurium* TA100. *J. Int. Med. Res.*, 28(5): 222-228.
- Kato T., Michikoshi K., Minowa Y. y Kikugawa K. (2001): Mutagenicity of cooked hamburger is controlled delicately by reducing sugar content in ground beef. *Mutat. Res.*, 471: 1-6.
- Kaur I.P. y Saini A. (2000): Sesamol exhibits antimutagenic activity against oxygen species mediated mutagenicity. *Mutat. Res.*, 470(1): 71-76.
- Krul C., Luiten-Schuite A., Tenfelde A., van Ommen B., Verhagen H. y Havenaar R. (2001): Antimutagenic activity of green tea and black tea extracts studied in a dynamic in vitro gastrointestinal model. *Mutat. Res.*, 474: 71-85.
- Laborda E. (1982): Ensayo de mutagenicidad en toxicología. Boletín Informativo del Medio Ambiente: 21-25
- Monarca S., Feretti D., Zanardini A., Moretti M., Villarini M., Spiegelhalter B., Zerbini I., Gelatti U. y Lebbolo E. (2001): Monitoring airborne genotoxicants in the rubber industry using genotoxicity tests and chemical analyses. *Mutat. Res.*, 490(2): 159-169.
- Placidi L., De Meo M., Gosselin G., Imbach J.L., Bryant M.L., Dumenil G. y Sommadossi J.P. (2001): Evaluation of the mutagenic and genotoxic activities of anti-hepatitis B analogs of beta-L-adenosine by the Ames test and the Comet assay. *Antivir. Res.*, 50(2): 139-145.
- Park J.H., Kang K.S. y Lee Y.S. (2001): Mutagenicity of water samples from five cities in Korea. *J. Vet. Med. Science*, 63(7): 767-771.
- Sasaki Y.F., Sekihashi K., Izumiyama F., Nishidate E., Saga A., Ishida K. y Tsuda S. (2000): The comet assay with multiple mouse organs: comparison of comet assay results and carcinogenicity with 208 chemicals selected from the IARC monographs and U.S. NTP Carcinogenicity Database. *Crit. Rev. Toxicol.*, 30(6): 629-799.
- Wang Y.Y., Flessel C.P., William L.R., Chang K., Dibartolomeis M.J., Simmons B., Singer H. y Sun S. (1987): Evaluation of guidelines for preparing wastewater samples for Ames testing. Short-term Bioassays In The Analysis of Complex Environmental Mixtures V. Shahberg S.S. David M.D. Marc J.M. Martha M.M. y Munford J.L. (eds.). Plenum Published Corporation.
- Wang J.C., Hu S.H., Lee W.L., and Tsai L.Y. (2001): Antimutagenicity of extracts of *Hericium erinaceus*. *Kaohsiung J. Med. Sci.*, 17 (5): 230-238.
- Weisburger J.H. (2001): Antimutagenesis and anticarcinogenesis, from the past to the future. *Mutat. Res.*, 1: 23-35.
- Yamagishi M., Natsume M., Nagaki A., Adachi T., Osakabe N., Takizawa T., Kumon H. y Osawa T. (2000): Antimutagenic activity of cacao: inhibitory effect of cacao liquor polyphenols on the mutagenic action of heterocyclic amines. *J. Agric. Food Chem.*, 48(10): 5074-5078.