

00361 12  
26



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**MODULACION DEL EFECTO GENOTOXICO DE LA  
MITOMICINA C (MMC) POR LAS VITAMINAS A Y C  
EN CELULAS SOMATICAS DEL ALA EN  
*Drosophila melanogaster***

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
( B I O L O G I A )**

**P R E S E N T A :  
BIOL. JUAN CARLOS GAYTAN OYARZUN**

MEXICO, D. F.

1993

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**INDICE:**

RESUMEN.....	1-2
INTRODUCCION.....	3-27
MATERIAL Y METODOS.....	28-35
RESULTADOS.....	36-56
DISCUSION.....	57-60
CONCLUSIONES.....	61
BIBLIOGRAFIA.....	62-70
RELACION DE TABLAS, FIGURAS, CUADROS Y GRAFICAS.....	71

## RESUMEN

Las investigaciones recientes sobre el conocimiento de los efectos de los agentes químicos a los que está expuesto el ser humano, han llevado al descubrimiento de productos naturales con capacidad moduladora de los procesos mutagénicos y/o carcinogénicos, algunos de los cuales se encuentran en derivados de animales y plantas, que pueden estar involucrados directa o indirectamente en la dieta diaria.

Debido a la gran cantidad de reportes acerca del potencial modulador de las vitaminas A y C, en el presente trabajo se evaluó el efecto modulador de dichas vitaminas sobre la genotoxicidad de un mutágeno de referencia (la mitomicina C).

Para conocer la modulación de las vitaminas A y C sobre la genotoxicidad de la mitomicina C se utilizó la prueba de mutación y recombinación somáticas (SMART), técnica que utiliza a las células somáticas del ala de *Drosophila melanogaster* y que es capaz de detectar agentes químicos que inducen o inhiben procesos mutagénicos y/o recombinogénicos.

Para determinar los diferentes mecanismos de modulación de las vitaminas sobre el mutágeno de referencia se diseñaron dos formas de administración a larvas en mezcla: la primera denominada aguda-crónica en la que se administró de manera aguda durante 6 hrs. la mitomicina C a una concentración de 0.625mM y posteriormente de manera crónica cada una de las vitaminas a una concentración de 100 ppm.; la segunda vía de administración fue denominada mezcla crónica en esta se suministró de manera simultánea a la mitomicina C (0.625mM) y cada una de las vitaminas (100 ppm.), corriéndose en ambos casos un testigo negativo concurrente (sacarosa al 5%).

Los resultados obtenidos manifestaron un efecto inhibitor más consistente de la vitamina A para ambos tipos de tratamientos, pero sin embargo la vitamina C inhibió más eficientemente el efecto genotóxico de la mitomicina C en el tratamiento crónico. Por lo que se concluye que los dos tipos de tratamientos propuestos en este trabajo constituyen una forma novedosa para la evaluación de mezclas complejas mediante la prueba de mutación somática y recombinación mitótica SMART. La mezcla crónica resultó más adecuada, proporcionó resultados consistentes, con la ventaja adicional de una sola manipulación de los organismos.

**INTRODUCCION:**

La evaluación de los efectos genotóxicos derivados de la exposición de los seres vivos a diferentes agentes químicos ha propiciado el desarrollo de diferentes sistemas de prueba con los cuales es posible valorar daño genético, tanto en células germinales (mutagénesis) como en las células somáticas (carcinogénesis).

La alta correlación entre la mutagénesis y la carcinogénesis ha generado gran interés en estudiar el efecto de agentes cancerígenos conocidos en las células somáticas. En *Drosophila melanogaster* se ha encontrado que cerca del 85% de los mutágenos probados en las células germinales, son cancerígenos en células somáticas (Graf et al. 1984).

El cáncer es una enfermedad multifactorial, que esencialmente provoca que las células se multipliquen de una manera descontrolada y progresiva, generándose tumores. Las células tumorales tienen la capacidad de no invadir (benigno) o de invadir a los tejidos vecinos, proceso llamado metástasis (tumores malignos o cancerosos). Estas células presentan además de su tendencia a multiplicarse de manera desordenada, características bioquímicas e inmunológicas específicas, que resultan de una desorganización génica peculiar (Vega, 1985).

Así como existen diversas fuentes de agentes cancerígenos, hay muchos tipos de cáncer con características especiales según el tejido u órgano afectado; se consideran tres tipos principales de cáncer:

a) Carcinomas.- de las células epiteliales, cerca del 90% de los tipos de cáncer en humanos son de este tipo.

b) Sarcomas.- de los tejidos conectivos o de soporte.

c) Grupos heterogéneos.- donde se incluyen los cánceres de los tejidos productores de células sanguíneas:

1) Leucemias.- de los tejidos de las células blancas sanguíneas.

2) Linfomas.- de los tejidos linfáticos, nódulos, vaso, médula y otros (Vega, 1985).

Debido a la alta incidencia de cáncer en México, la investigación acerca de los agentes químicos que puedan combatirlo se ha ido incrementando en los últimos años.

Estudios epidemiológicos recientes, han revelado una estrecha relación entre el desarrollo del cáncer y su inhibición, con factores nutricionales así como con el estilo de vida, lo cual puede deberse a que la dieta influye en la exposición y la dosis a agentes carcinógenos, y a anticarcinógenos, tanto de origen antropogénico (pesticidas, hormonas, aditivos de alimentos y otros) como de origen natural (algunos macro y micronutrientes) (Lai, 1980 y Carr, 1985).

Ellerman y Bang en 1908 (Citado en Gessain y Gallo, 1990), mencionan que algunos cánceres de la sangre (leucemia) de pollo pueden ser inducidos mediante agentes de tipo vírico. Posteriormente Boveri en 1914 (Citado en Croce y Koprowski, 1978). postula que el cáncer se puede originar a través de mutaciones somáticas por errores internos del organismo

Boveri, también reconocía la importancia de ciertos factores ambientales, como los carcinógenos químicos y las radiaciones ionizantes, en su calidad de agentes desencadenantes de la transformación maligna (Croce y Koprowski, 1978).

En 1918 Yamagiwa e Ichikawa lograron producir experimentalmente cáncer de la piel en animales de laboratorio a los cuales se les aplicaba tópicamente y repetidamente una mezcla de alquitranes de carbón. La relación circunstancial

entre el desarrollo industrial de los países y el aumento en la frecuencia del cáncer, promovió el estudio de la capacidad carcinogénica de los productos químicos más usados por el hombre (Vega, 1985).

El resultado de estudios epidemiológicos demuestra que existen diferencias en la incidencia del cáncer entre diferentes poblaciones, lo que sugiere una contribución ambiental en cuanto a la etiología del cáncer (Carr, 1985).

La carcinogénesis se considera un caso de toxicidad crónica en la cual un agente extraño, denominado xenobiótico, induce directa o indirectamente que una célula pase al menos por uno de los estadios de los procesos de transformación maligna. Este agente externo maligno actúa a nivel del material genético y/o de los mecanismos que controlan la diferenciación celular (Vega, 1985 y Albert, 1988).

Recientemente se han obtenido evidencias que muestran que en todas las células normales existen genes que contienen la información para que se desarrolle un clon de células cancerosas. A estos genes se les denomina oncogenes, no se sabe cual es su función de una manera exacta, pero el hecho de que estos genes sean similares entre diferentes especies, manifiesta que se han conservado evolutivamente. Se supone que estos genes están totalmente inactivos en las células adultas, llevan a cabo función específica en el desarrollo, la cual cesa en una determinada etapa del ciclo celular. Existen amplias evidencias sobre modificaciones genéticas sobre estos puntos, a través de mutaciones puntuales, translocaciones, inserciones y duplicaciones, que resultan en la activación ó inactivación de alguno de estos genes y con una alta asociación con la transformación maligna (Vega, 1985 y Knudson, 1989).

Parece ser que en la fase de iniciación del cáncer, se

activa un oncogene, debido a una mutación en el mismo o en su promotor génico correspondiente. En cada caso se producirá una proteína nueva ó una que normalmente no está presente en las células adultas. No existe una hipótesis bien fundamentada para explicar la manera en que estas proteínas codificadas por los oncogenes, transforman a las células normales en malignas (Vega, 1985 y Knudson 1989). Se ha demostrado que estas proteínas reproducen su efecto sobre los factores de crecimiento normales por lo tanto, esta actividad, puede estimular la división celular al codificar un componente de un factor de crecimiento celular o un receptor anormal para los factores de crecimiento (Logan y Cairns, 1982 y Vega, 1985).

Muchos productos químicos derivados de animales y de plantas han sido clasificados como agentes inductores del cáncer, cuando se les administra a animales de laboratorio bajo condiciones controladas a dosis apropiadas. Algunos de éstos se encuentran en la dieta diaria, dependiendo de sus concentraciones y de su estructura química pueden influir en la promoción o inhibición de la proliferación tumoral (Sainsbury, 1979 y Carr. 1985).

El efecto de la inhibición en células cancerosas por medio de antimutagenos fue utilizado por primera vez por Westergaard en 1957, quien menciona a la catalasa como un inhibidor de mutaciones (Travis, 1988).

Recientemente este concepto fue ampliado por Kada (1982) y posteriormente por De Flora y Ramel (1988), quienes proponen que la inhibición de la mutagénesis y de la carcinogénesis ocurre a tres niveles:

a) Extracelular (desmutágenos): Se inhibe al mutagéno ó a su precursor, al impedir su penetración, bloqueando la

formación de mutágenos endógenos por medio de las reacciones de nitrosación y por las modificaciones de la flora intestinal, ó bien desactiva al mutágeno por reacciones físicas, químicas y/o enzimáticas.

b) Intracelular (bio-antimutágeno): la inhibición es por una modulación del metabolismo, ya sea inhibiendo la proliferación celular, reaccionando directamente con el mutágeno para que no llegue a la célula blanco, bloqueando la activación de los promutágenos, induciendo la desintoxicación, bloqueando moléculas reactivas por medio de reacciones electrofílicas, químicas y/o enzimáticas, además de proteger los sitios nucleofílicos del ADN y de modular tanto la replicación como la reparación de éste.

c) De la proliferación tumoral (anticancerígeno): este puede ser a dos niveles, en el primero se modula la promoción de los tumores por bloqueo de los efectos genotóxicos al atrapar radicales libres e inhibir la proliferación celular. En el segundo, es a través de la progresión celular, por medio de un control hormonal en el crecimiento, suprimiendo los efectos genotóxicos o activando el sistema inmune (De Flora y Ramel, 1988) (Tabla I).

La mayoría de los agentes anticancerígenos que se han detectado inhiben la división celular inespecíficamente, al interferir de una u otra manera, con la síntesis o con la utilización de los ácidos nucleicos (Hellman, 1972 y Sainsbury, 1979).

Entre los micronutrientes presentes en la dieta diaria, algunas vitaminas han mostrado efectos antitumorales y/o actividad antimutagénica, como los Carotenoides, la vitamina A (y sus derivados sintéticos, los retinoides), las vitaminas C

TABLA I. Mecanismos de inhibición de la mutagénesis y de la carcinogénesis . (De Flora y Ramel, 1988).

- 1.-INHIBICION DE MUTAGENESIS A NIVEL EXTRACELULAR (DESMUTAGENO)
- 1.1 INHIBICION DEL O DE SU PRECURSOR
    - 1 DIFICULTAD DE PENETRACION
    - 2 EN EL ORGANISMO
    - 3 EN LA CELULA
  - 1.2 INHIBICION DE LA FORMACION ENDOGENA DE MUTAGENOS
    - 1 INHIBICION DE LAS REACCIONES DE NITRACION \*
    - 2 MODIFICACION DE LA FLORA INTESITAL
  - 1.3 DESACTIVACION MUTAGENICA
    - 1 POR REACCIONES FISICAS
    - 2 POR REACCIONES QUIMICAS\*\*
    - 3 POR REACCIONES ENZIMATICAS
- 2.- INHIBICION DE MUTAGENESIS A NIVEL INTRACELULAR (ANTIMUTAGENO)
- 2.1 MODULACION DEL METABOLISMO
    - 1 INHIBIENDO LA REPLICACION \*\*\*
    - 2 FAVORECIENDO EL SECUESTRO DEL MUTAGENO
    - 3 INHIBIENDO AL PROMUTAGENO
    - 4 ACTIVANDO O PROMOVRIENDO LA DETOXIFICACION
  - 2.2 BLOQUEO DE MOLECULAS REACTIVAS<sup>a</sup>
    - 1 REACCIONES ELECTROFILICAS<sup>a</sup> (QUIMICAS Y/O ENZIMATICAS)
    - 2 ATRAPADOR DE ESPECIES OXIDANTES \*\*
    - 3 PROTECCION DE LOS SITIOS NUCLEOFILICOS<sup>b</sup> \*\*\*
  - 2.3 MODIFICACION DE LA REPLICACION Y/O REPARACION DEL ADN
    - 1 INCREMENTO DE LA FIDELIDAD EN LA REPLICACION
    - 2 FAVORECE LA REPARACION
    - 3 INHIBICION DE LA REPARACION SUJETA A ERROR
- 3.- INHIBICION DE LA INICIACION Y/O PROLIFERACION DE CELULAS NEOPLASICAS (ANTICANCERIGENOS)
- 3.1.MODIFICACION DE LA PROMOCION
    - 1 INHIBICION DE EFECTOS TOXICOS
    - 2 ATRAPANDO RADICALES LIBRES \*\*\*
    - 3 INHIBIENDO LA PROLIFERACION Y LA DIFERENCIACION
    - 4 MODULANDO LA SEÑAL DE LA TRADUCCION
  - 3.2 MODULACION DE LA PROGRESION TUMORAL

\* VITAMINA C      \*\* EFECTO ANTIOXIDANTE      \*\*\* VITAMINA A

(a) ELECTROFILICO: IONES QUE ACEPTAN ELECTRONES

(b) NUCLEOFILICO: SITIO BLANCO DE AGENTES ELECTROFILICOS

y E que son conocidos agentes antioxidantes y atrapadores de radicales de oxígeno, las cuales también inhiben la formación de compuestos nitroso que son altamente genotóxicos (Shamberger et al. 1979; Ames, 1983 ; Ong et al. 1989 y Raymond et al. 1989).

La vitamina A puede alterar o inhibir la proliferación tumoral, al reducir la promoción y/o la expresión del cáncer (Qin y Huang, 1985) (Tabla I). Afecta diversas vías metabólicas de diferentes tipos de agentes mutagénicos provocado una inhibición mutagénica, evitando la proliferación celular y de la actividad de las proteasas en *Salmonella* (Carr, 1985; De Flora y Ramel, 1988 y Ong et al. 1989). Además de su inhibición mutagénica se ha reportado que reduce la formación de aberraciones cromosómicas, de intercambio de cromátidas hermanas, de micronucleos e incluso suprime los efectos colaterales del tabaco (Hartman y Shankel, 1990 y Stich et al. 1990).

La vitamina A no solo interfiere con la promoción y la progresión del cáncer, sino que gracias a su actividad antioxidante puede tener efectos inmunoreguladores, además de citotoxicidad sobre las células neoplásicas (De Flora y Ramel, 1988). Por eso se ha reportado que inhibe eficazmente la proliferación tumoral a dosis agudas (Sporn y Roberts, 1983 y Pastorino et al. 1991). En la cuadro 1 se anotan algunas de las características más relevantes de la vitamina A.

La vitamina A al ser metabolizada en mamíferos se transforma en ácido retinoico, el cual es de 100 a 1000 veces más activo que el retinol *in vivo* e *in vitro*. Se ha reportado un efecto sobre el control de la expresión del gen *myC* en el sistema HL60, aunque se ignora si es una inhibición directa o indirecta, pero su analogía con esteroides sugiere que la

## ACIDO RETINOICO

NOMBRES COMERCIALES: ACIDO RETINOICO, TRETINOIN, ABEREL, AIROL, CORDES VAS, EPI-ABEREL RETIN-A.

USO: EN TRATAMIENTOS SEVEROS DE PIEL Y ACNE, ANTIOXIDANTE

SOLUBILIDAD: LIPOSOLUBLE

LOCALIZACION: EN HIGADO DE PECES Y GRASAS ANIMALES, EN PLANTAS EXISTE COMO PRO-VITAMINA A (B-CAROTENOS)

ESTABILIDAD: FOTOSENSIBLE

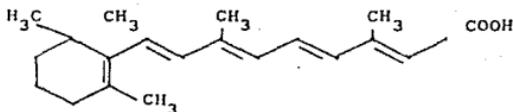
EFFECTOS: ANTICANCERIGENO, INHIBICION DE ONCOGENES, CONTROL DE LA DIFERENCIACION Y PROLIFERACION CELULAR, SU EXCESO PRODUCE QUERATINIZACION Y DEBILITA LOS HUESOS

NOTA: EN SISTEMAS MAMIFEROS ES METABOLIZADO A RETINOL EL CUAL ES DE 100 A 1000 VECES MEJOR ANTIOXIDANTE, SI ESTE TAMBIEN ES METABOLIZADO SE TRANSFORMA EN ACIDO RETINOIDAL BENZOICO QUE ES 1000 VECES MAS ACTIVO, SU DEFICIENCIA PROVOCA CEGUERA NOCTURNA CON RESEQUEDAD Y ENCOSTRADO DE MUCOSA.

PESO MOLECULAR: 300.42

FORMULA CONDENSADA:  $C_{20}H_{28}O_2$

FORMULA ESTEREOQUIMICA:



CUADRO.1 Generalidades de la vitamina A (Sporn y Roberts, 1983; Ong et al. 1986 e Index Merck, 1989).

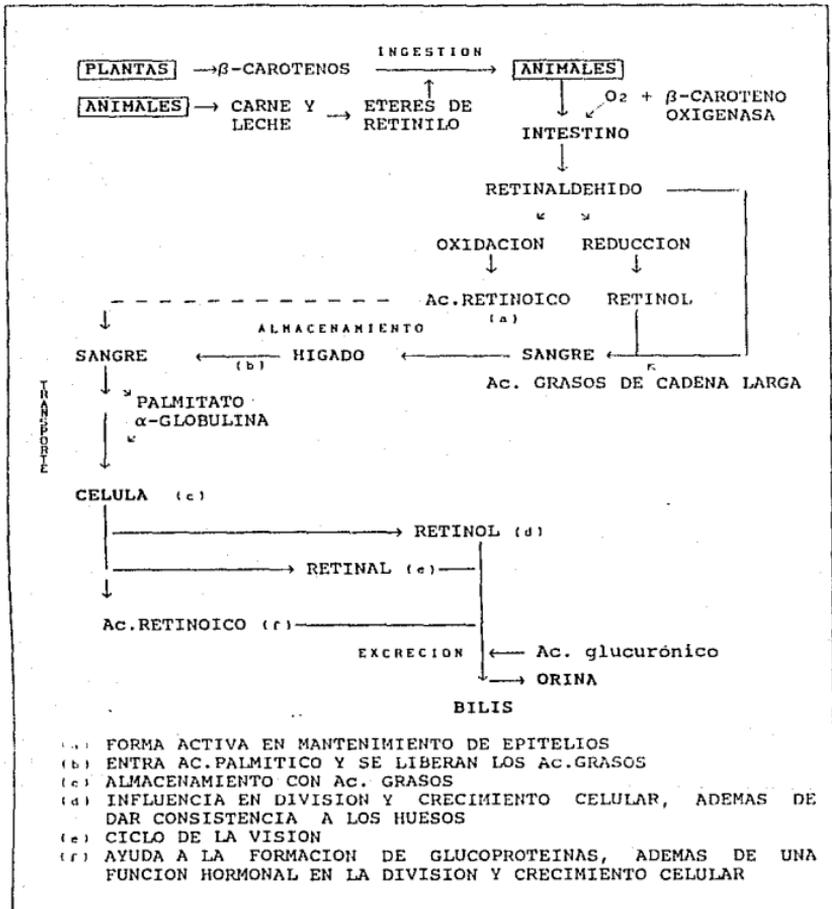
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

acción del ácido retinoico en el control de la expresión génica es mediante una unión específica con proteínas (Sporn y Roberts, 1983) (Cuadro 2).

Las deficiencias en la dieta diaria de las vitaminas A y C se han caracterizado como un factor que favorece el desarrollo del cáncer en el esófago. Además de que ambas vitaminas también reducen la inestabilidad cromosómica en varios síndromes (Stich et al. 1990)

La vitamina C es un importante agente antioxidante (Ong et al. 1986) que ha mostrado tener tanto una actividad antimutagénica, como anticancerígena, y en algunos casos de potenciación mutagénica (Andrews et al. 1979; Mita et al. 1982 y Alzieu et al. 1987), además se ha reportado que no es cancerígena en ratas y ratones. (Hartman y Shankel, 1990). Interviene en muchas reacciones enzimáticas, en el desarrollo de cartilagos, dientes y huesos, se utiliza para curación de heridas y como cadyuvante de la absorción de hierro en el intestino; su deficiencia produce escorbuto, inestabilidad cromosómica y una alta incidencia de infecciones (Trease y Evans, 1991) (Cuadro 3).

Entre los efectos antimutagénicos y anticancerígenos que se han reportado de la vitamina C, se muestra una inhibición de retromutaciones del 60% en la prueba de *Salmonella*. Es un agente antioxidante importante para la protección de enfermedades y procesos degenerativos causados por la peroxidación de los lípidos. Junto con la vitamina E mostró un efecto anticlastogénico en cromosomas humanos, además de inhibir las rutas metabólicas que activan a los procarcinógenos y de estimular el sistema inmune (Mita et al. 1982; Gebhart et al. 1985; Sydney y Mirvish, 1986; De Flora y Ramel, 1988; Frei et al. 1988 y Hartaman y Sharkel, 1990) (Cuadros 3 y 4).



CUADRO 2. Metabolismo de la vitamina A (Farias, 1988 y Jaime, 1990).

## VITAMINA C

NOMBRES COMERCIALES: ACIDO ASCORBICO, VITAMINA ANTIESCORBUTICA, ACIDO CEVITAMICO, CEBID, CEVALIN, C-VITAMIN, Ce-Vi-Sol, ASCORIN Y PLANAVIT C.

USO: ANTIMICROBIANO Y ANTIOXIDANTE EN ALIMENTOS, EN EL TRATAMIENTO DE RESFRIADOS COMUNES, ANTIESCORBUTICO, CON APLICACIONES INMUNOLOGICAS Y ANTICANCERIGENAS.

ESTADO FISICO: POLVO BLANCO DELICUESCENTE

SOLUBILIDAD: EN AGUA EN UN 80% A 100°C

INSOLUBLE: EN ETER, CLOROFORMO, BENZENO Y ACEITES

ESTABILIDAD: FOTOSENSIBLE Y SE OXIDA LENTAMENTE CON EL OXIGENO ATMOSFERICO.

LOCALIZACION: AMPLIAMENTE DISTRIBUIDO EN PLANTAS, PRINCIPALMENTE CITRICOS.

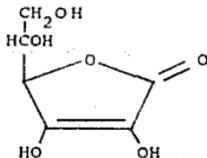
EFFECTOS: ANTICANCERIGENO, INHIBIDOR DE LA PROGRESION TUMORAL, NECESARIO PARA EL DESARROLLO DE HUESOS, CARTILAGOS Y DIENTES. SE ALMACENA EN SUPRARENALES CON UN PROMEDIO DE VIDA DE DOS SEMANAS, SE ELIMINA COMO ACIDO ASCORBICO EN SU MAYORIA, SU CARENCIA CAUSA ESCORBUTO ADEMÁS DE UNA LENTA CICATRIZACION

PESO MOLECULAR: 176.12

FORMULA CONDENSADA:

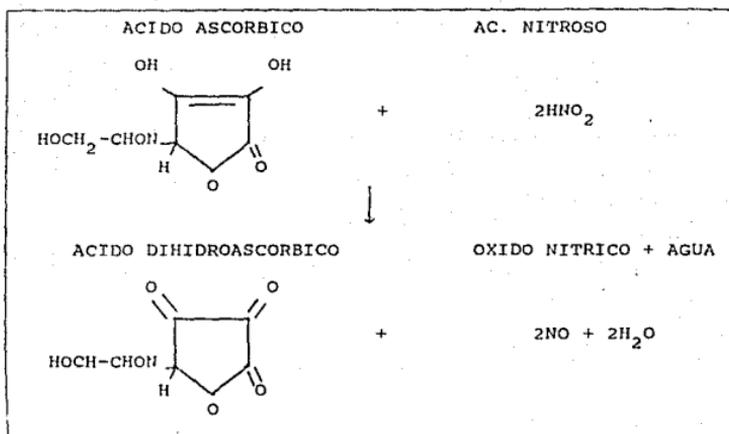


FORMULA ESTEREOQUIMICA:



CUADRO 3. Generalidades de la vitamina C

(Ong et al. 1986; Index Merck, 1989 y Trease y Evans, 1991)



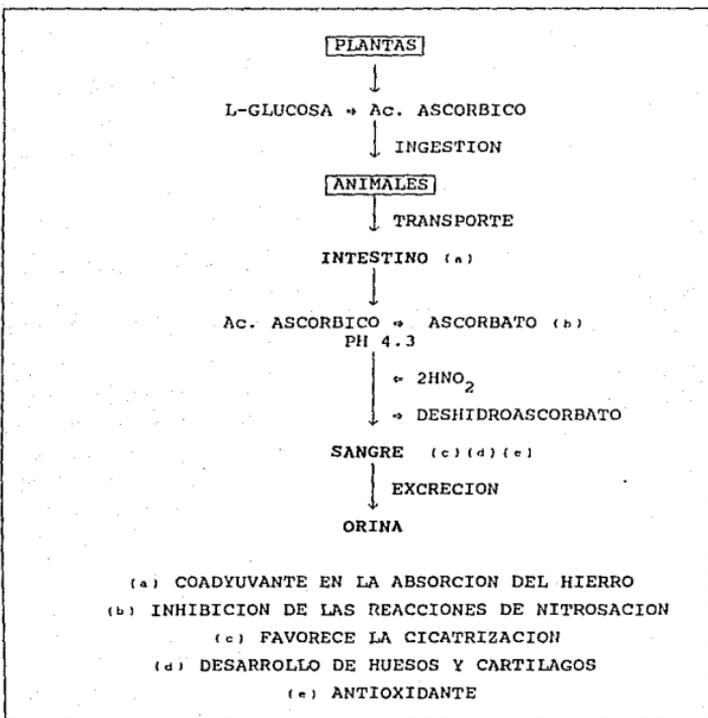
CUADRO 4. Inactivación de las reacciones de nitrosación por la vitamina C (Sidney y Mirvish, 1986)

Inhibe la formación de compuestos N-nitroso y nitrilo que se forman en el estómago y que están relacionadas con el origen del cáncer (Jain et al. 1989).

El ácido ascórbico al ser metabolizado se transforma en ascorbato, que es 230 veces más activo en solución acuosa, y debido a las altas concentraciones en que se encuentra en la sangre se postula que es el principal antioxidante fisiológico relacionado con la protección contra algunas enfermedades y procesos degenerativos (Frei et al. 1988) (Cuadro 5). A dichas concentraciones es eficiente en atrapar y reaccionar con ozono, superóxidos y radicales hidroxilo, no así con peróxido de hidrógeno (Frei et al. 1988).

Bajo condiciones poco frecuentes y no fisiológicas el ascorbato puede ser clastogénico y mutagénico causando rompimientos sencillos en el ADN. En cuanto a dichos efectos, se ha reportado que incrementa la mutagenicidad del 3-hidroxi-amino 1-metil 5H-pirido [4,3-b]indol (Mita et al. 1982), del N-hidroxi acetilaminofluoreno (Andrews et al. 1979) y del benzo[a]pireno (Alzieu et al. 1987) en *Escherichia coli*. Aumenta la frecuencia de mutaciones inducidas, y de rompimientos cromosómicos (clastogenia) inducidos por la bleomicina al ser metabolizada por activación *in vitro* por la fracción microsomal S9 (Gebhart et al. 1985).

La mitomicina C (MMC) es un antibiótico aislado de *Streptomyces caespitosus* el cual contiene grupos quinona, carbamato y aziridina que pueden ser activados. Este medicamento es muy tóxico con propiedades antineoplásicas, se emplea clínicamente en contra de las células tumorales hipóxicas y al parecer tiene una utilidad cada vez mayor en la quimioterapia combinada (bleomicina y vincristina) para el carcinoma de células escamosas del cuello uterino y para los adenocarcinomas del estómago y pulmón (Salmon y Sartorelli,



CUADRO 5. Metabolismo de la vitamina C  
 (Sidney y Mirvish, 1986)

1990). Se activa por vía enzimática dentro de las células y actúa como agente alquilante monofuncional o bifuncional; también forma enlaces cruzados intra y/o interbanda en el ADN, principalmente durante las fases S y G<sub>2</sub> del ciclo celular. Inhibe la síntesis de ADN, ARN y de proteínas (Scheve et al. 1971; Reynolds, 1989 y Carranza, 1990).

La mitomicina C (MMC) es un promutágeno bien conocido y uno de los pocos que ha sido extensamente estudiado en ambos sexos de *Drosophila melanogaster*. En ovocitos y en ovogonias produce mutaciones letales recesivas ligadas al sexo, pérdida del cromosoma X, fragmentación del cromosoma Y y varios tipos de intercambios de cromosomas no homólogos (X-Y, X-4R y Y-4R), pero no se ha observado que induzca no disyunción en hembras XXY. En machos las mutaciones letales recesivas se han encontrado en todos los estadios celulares de la espermatogénesis. En espermatoцитos y en espermatogonias se han observado intercambios (X-Y y Y-Y) pero sin incremento en la inducción de no disyunción (De Serres y Shelby, 1981) (Cuadro 6). Se sabe que su principal mecanismo de acción es mediante la formación de enlaces cruzados con la hebra complementaria en el ADN (Marshall y Rauth, 1986 y Reynolds, 1989).

La evaluación de los efectos mutagénicos y carcinogénicos de los agentes genotóxicos, se realiza empleando numerosos sistemas de prueba, los que permiten valorar diversos puntos genéticos terminales. Estos bioensayos incluyen a un gran número de organismos, cada modelo aporta información genética específica.

La mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* ha mostrado ser un sistema de prueba ventajoso, ya que es rápido, pues su ciclo de vida es de aproximadamente 10 días a 25°C, también es económico, versátil y eficiente; además de ser el eucarionte

## MITOMICINA C

USO Y ORIGEN: ANTIBIOTICO ANTITUMORAL PRODUCIDO POR  
*Streptomyces caespitosus*

NOMBRES Y ABREVIACIONES: MITOMICIN-C, MUTAMYCIN Y MMC.

CLASIFICACION: PROMUTAGENO ANTINEOPLASICO

SOLUBILIDAD: AGUA, ACETONA, METANOL Y ETER.

DAÑOS REPORTADOS EN *Drosophila melanogaster*:

MUTACIONES LETALES RECESIVAS LIGADAS AL SEXO EN OVOCITOS Y  
OVOGONIAS, ESPERMATOCITOS Y ESPERMATOGONIAS

PERDIDA DEL CROMOSOMA X

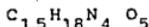
FRAGMENTACION DEL CROMOSOMA Y

INTERCAMBIOS ENTRE CROMOSOMAS NO HOMOLOGOS

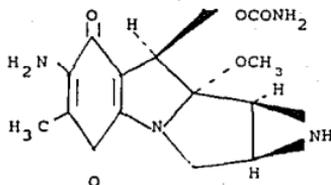
( X-Y, X-4R y Y-4R)

INTERCAMBIOS X-Y Y Y-Y EN ESPERMATOCITOS Y ESPERMATOGONIAS

FORMULA CONDESADA:



FORMULA ESTEREOQUIMICA:



CUADRO 6.- Datos generales del mutágeno de referencia

mejor conocido desde el punto de vista genético (Zimmering, 1976 y Salceda, 1984) (Figura 1). Posee un paquete enzimático con una fracción microsómica que es similar a la S-9 del hígado de mamíferos, con enzimas que están involucradas en la degradación o en la activación *in vivo* de sustancias mutagénicas o carcinogénicas, lo cual hace posible evaluar compuestos tanto de acción directa como indirecta (Chandley y Bateman, 1962; Vogel, 1975 y Zijilstra, 1984).

Otra de las ventajas que ofrece el sistema de prueba que utiliza a *Drosophila*, es que permite detectar, a través de cruza específicas, la inducción de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo, mutaciones letales dominantes, pérdida parcial y/o total de cromosomas autosómicos y sexuales, mutación somática y recombinación mitótica, translocaciones, deleciones, duplicaciones y no disyunción (Valencia et al. 1984).

Recientemente se ha desarrollado una nueva prueba, la de mutación y recombinación somáticas (SMART) que permite establecer una relación entre la actividad recombinogénica y la carcinogénesis (Fahmy y Fahmy, 1970; Graf et al. 1983 y Würzler et al. 1986)

La prueba SMART es muy sensible, ya que detecta compuestos de estructura química variada, es económica, se realiza en una sola generación, y permite analizar un gran número de células blanco (1 000 000 células) con un tamaño de muestra de 40 alas (García Bellido y Merriam, 1971; Graf et al. 1984 y Vogel y Szakmary, 1990).

SMART es capaz de detectar recombinación mitótica y daños genéticos, como mutaciones puntuales, deleciones y no disyunción (Figura 2). Estas alteraciones se reflejan en la aparición de manchas de fenotipos alternativos, con los que se

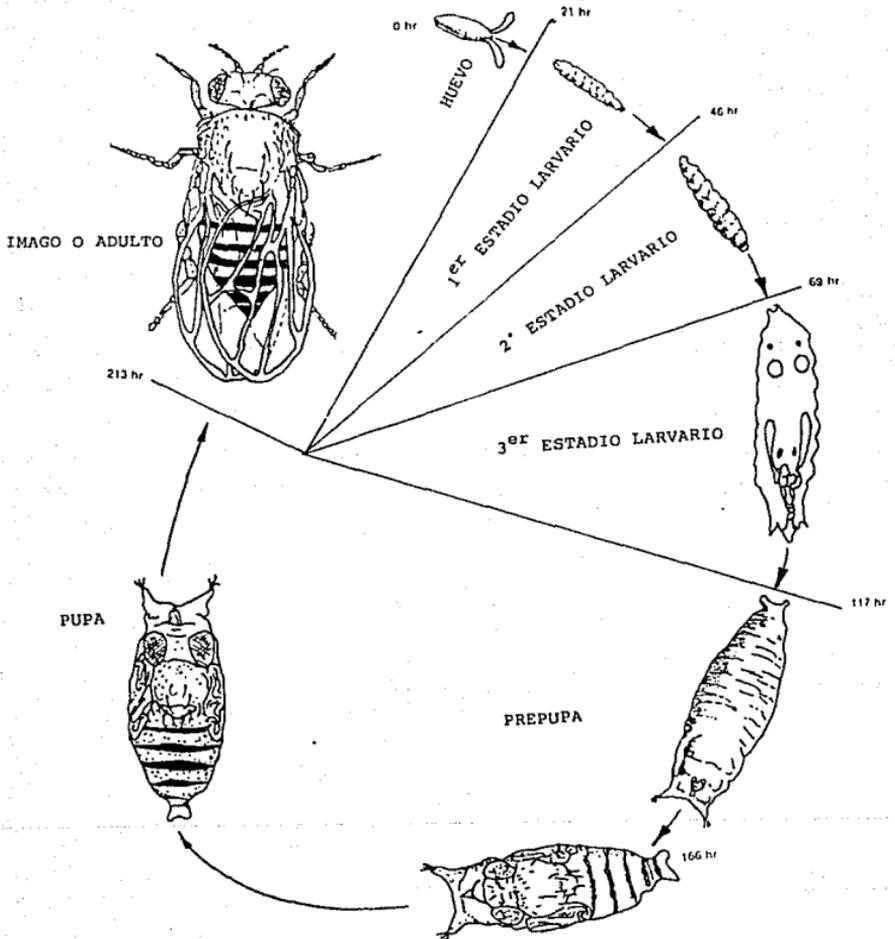


FIGURA 1. Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*  
(Beker, 1965 Citado en Delgado, 1990)

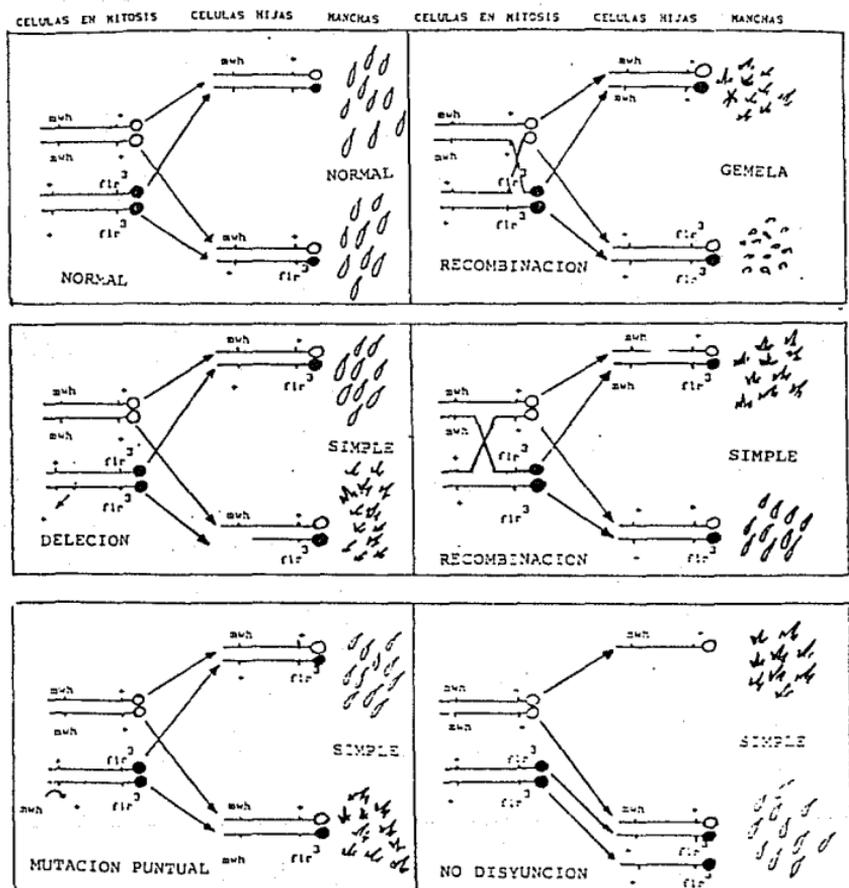


FIGURA 2. Eventos recobrados con la prueba de SMART en ala de *Drosophila melanogaster* (Graf *et al.* 1984)

marcaron las células de los discos imagales de las larvas. Estos discos son conjuntos celulares indiferenciados que se dividen mitóticamente hasta la pupación. Durante la metamorfosis se originan a partir de ellos estructuras definidas del organismo adulto, como las alas, los ojos, las gónadas, las patas y otras (Graf et al. 1984) (Figura 3).

Las células de los discos imagales no están involucradas en la formación del cuerpo de la larva, son distinguibles de las células larvarias por su tamaño pequeño, su constitución cromosómica diploide, su retención de la capacidad de división celular y porque alcanzan su diferenciación hasta que entran a la etapa de metamorfosis.

Los discos imagales aumentan de tamaño por mitosis sucesivas, las cuales ocurren a determinados tiempos durante el desarrollo larvario, mientras que las células larvarias que forman el cuerpo de la larva, han perdido su capacidad de división y solamente aumentan de tamaño, en algunas se presentan cromosomas politénicos, son poliploides y están determinadas genéticamente (Demerec, 1965 y Wilkins, 1985).

Durante la metamorfosis la hormona ecdisterona desencadena una serie de cambios en el organismo, este proceso involucra la destrucción de ciertos tejidos y órganos larvarios (histólisis) y la organización de las estructuras del adulto a partir de un complejo de células primitivas, los discos imagales. Todos los órganos del imago se forman a partir de discos imagales ya presentes en la larva o por células larvarias que se diferencian en el momento de la reorganización del estado pupal (Wilkins, 1985).

El disco imagal del ala en el momento de la eclosión del huevo tiene 12 células primordiales debidas a aproximadamente 3.5 divisiones celulares. Durante el resto del desarrollo

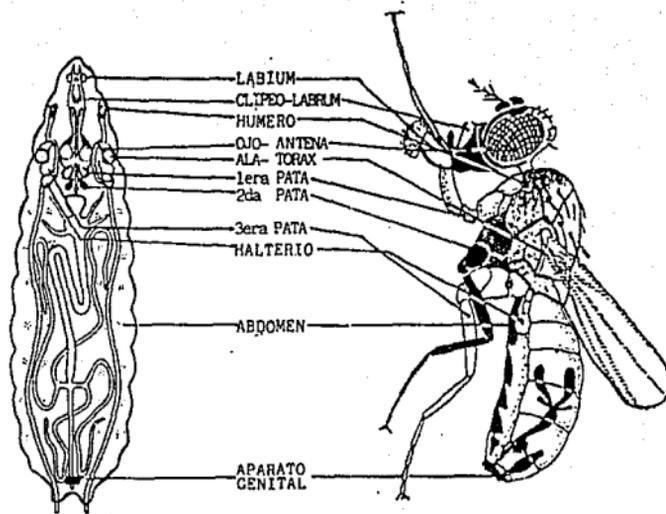


FIGURA 3. Discos imagales y su correspondencia con las estructuras que van a dar origen en el adulto.  
 (Wilkins, 1985)

larvario ocurren cerca de 12.5 divisiones celulares en 120 horas, lo que equivale a 8.5 horas. para cada división. Al término del primer estadio larvario cada disco imagal del ala cuenta más o menos con 96 células, en el segundo con 768, en el tercero con 12,288 y finalmente en la pupación, poco antes de que empiece la diferenciación celular, cuenta ya con 52,000 células (García Bellido y Merriam, 1971).

Para la evaluación de los efectos genotóxicos inducidos por agentes químicos, al emplear la prueba SMART, se comparan las frecuencias de manchas en las series tratadas y en las observadas en los grupos testigo. Esta frecuencia depende del número de células expuestas al agente químico, en el momento del tratamiento, lo cual está relacionado con la edad de la larva (García Bellido y Merriam, 1971; Szabad et al. 1983 y Graf et al. 1984) (Figura 4).

El número de células examinadas en el adulto es solo de 25,000 de las 30,800 que hay en el ala de una mosca adulta. El protocolo excluye el análisis de las zonas proximales del ala, por el alto grado de compactación de las células, que en esas zonas, hace difícil el registro de las manchas (García Bellido y Merriam, 1971; Szabad et al. 1983; Graf et al. 1984; Würgler y Vogel, 1987) (Figura 5).

Las revisiones de la prueba SMART hechas de una manera independiente por Ramel (1986), por Würgler y Vogel (1987), y por De Flora y Ramel (1988), permiten llegar a la conclusión de que es un sistema ideal en genética toxicológica, por su capacidad en la detección de daño genotóxico inducido por promutágenos en células somáticas, por su relación con la actividad recombinogénica y con el origen del cáncer (Beker, 1975 y Cairns, 1981).

El sistema SMART ha detectado eficientemente agentes

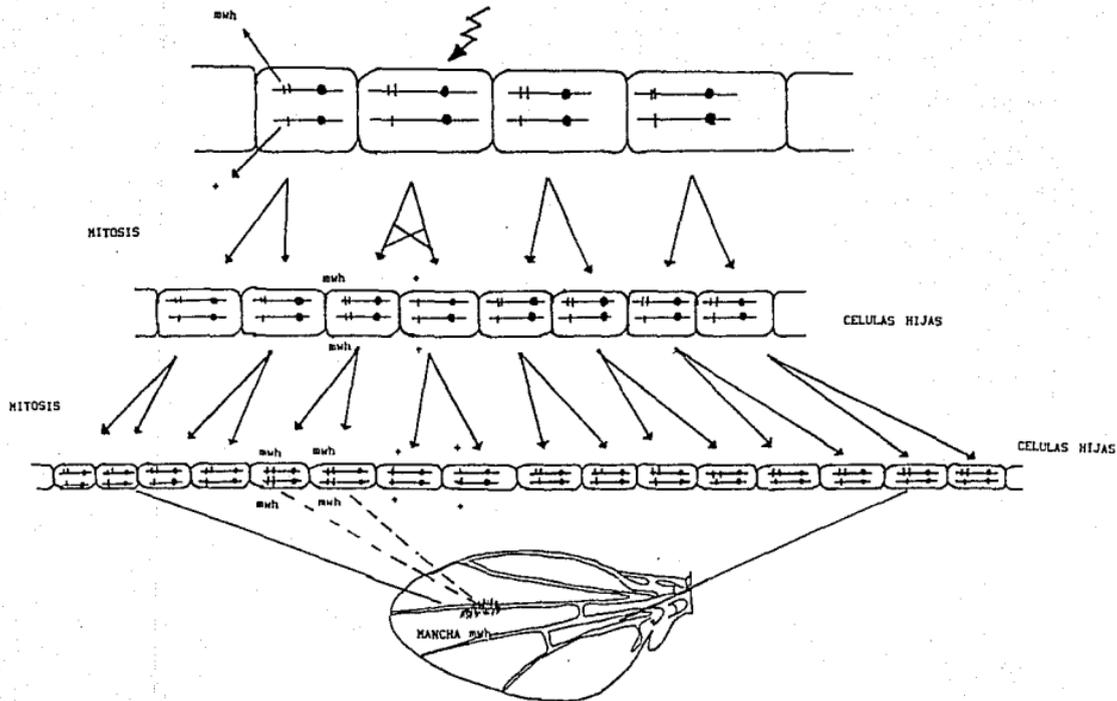


FIGURA 4. Origen de un clon celular en ala de *Drosophila melanogaster*.

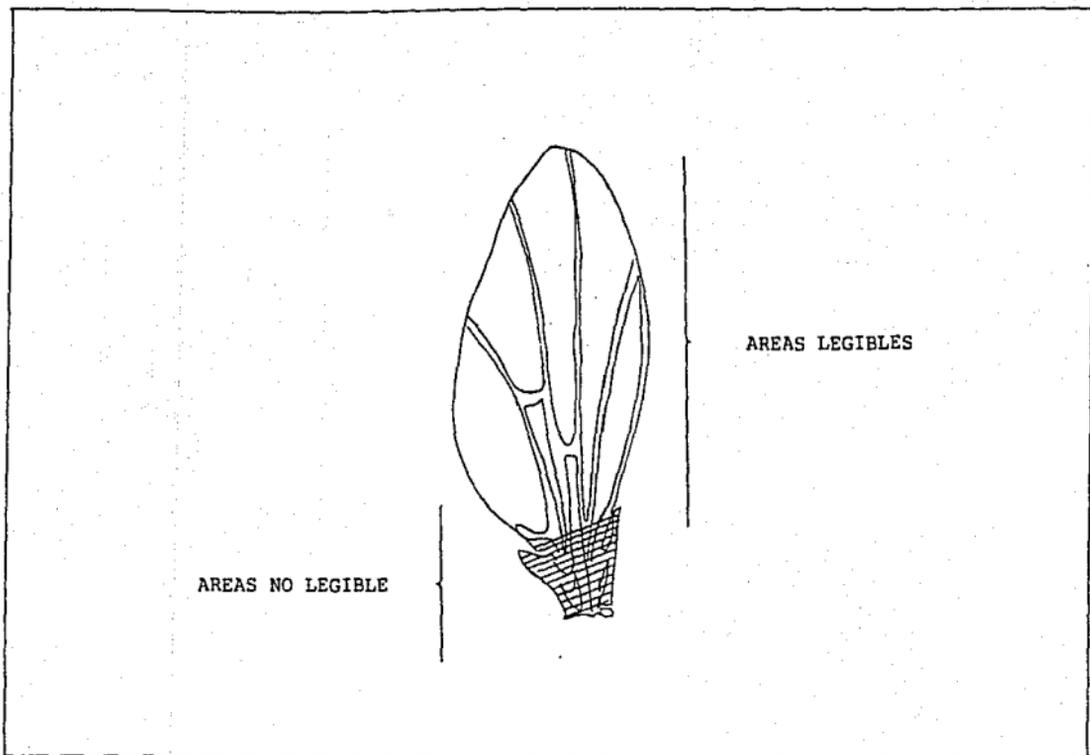


FIGURA 5. Esquema que muestra de manera sombreada las áreas del ala de *Drosophila melanogaster* que se excluyen del registro.

alquilantes (mono- y polifuncionales), aductos, agentes intercalantes, clastógenos, antimetabolitos y venenos metabólicos, en solución acuosa como gaseosa (Graf et al. 1984).

Los eventos genéticos de delección, mutación puntual, no disyunción y de recombinación entre los marcadores *mwh* y *flr*<sup>3</sup> se evidencian como una mancha sencilla, mientras que la recombinación entre *flr*<sup>3</sup> y el centrómero se manifiestan como una mancha gemela (Figura 2); el tamaño de éstas se encuentra en relación con el número de divisiones que tenga la célula después de haberse inducido el daño (Graf et al. 1984).

Ya desde la segunda mitad de este siglo Auerbach (1945) detectó la aparición de clones celulares en la cutícula de moscas adultas, que durante el estadio larvario fueron expuestas a mutágenos químicos. Posteriormente Graf y colaboradores (1984) mencionan que los agentes alquilantes inducen clones en el disco imagal del ala de larvas tratadas.

En *Drosophila* se ha obtenido hasta un 85% de correlación entre los carcinógenos examinados en células somáticas y su actividad mutagénica en células germinales (Graf et al., 1984), también se ha visto que existe una alta correlación entre la actividad recombinogénica y la carcinogénesis (Cairns, 1981), por lo cual las pruebas que emplean células somáticas son de suma importancia.

Debido a la falta de conocimiento sobre los efectos y mecanismos reales de agentes que minimicen de manera natural la genotoxicidad de los compuestos químicos a los que está expuesto el hombre diariamente, el presente trabajo, tiene como principal objetivo conocer los efectos moduladores de las vitaminas A y C, sobre la genotoxicidad de la mitomicina C (MMC) en la prueba de mutación somática y recombinación mitótica (SMART) en alas de *Drosophila melanogaster*.

**Material y Metodos**

**Sistema de cruza:** se emplearon machos de la línea flr<sup>3</sup>/TM3, Ser los cuales poseen dos marcadores (Cuadro 7):

a) flr<sup>3</sup>(3-38.8).- que es recesivo y produce el fenotipo de tricomas de forma anormal "flama". El eje de las quetas es frecuentemente encorvado y ramificado, los tricomas son cortos y aparecen como abultados o hinchados sobre las células del ala y como rosetas en las células de la cutícula del abdomen. Es letal en condición homocigótica, pero a nivel celular es viable (García-Bellido y Dapena, 1974).

b) TM3 .-Para el mantenimiento de esta línea se requiere de la presencia de un cromosoma balanceador; este cromosoma es el TM3, el cual presenta múltiples inversiones que abarcan gran parte del cromosoma 3, además porta el marcador serrata Ser (3-92.5), que sirve para identificar a organismos heterocigotos (García-Bellido y Dapena, 1974) (Cuadro 7). Este marcador es dominante y produce una muesca en el extremo del ala, que es más profunda en las segundas celdas posteriores; el gene es letal en condición homociga, es pleiotrópico y con expresividad variable (Lindsley y Grell, 1968; Lindsley y Zimm, 1990) (Cuadro 7).

Las hembras se obtienen de la línea mwh/mwh "multiple wing hairs" (3-0.0), esta es una mutación recesiva de origen espontáneo, las células del ala en el organismo adulto contienen grupos de 2 a 5 tricomas por célula en lugar de 1 como en el silvestre (Lindsley y Grell, 1968) (Cuadro 7).

**Compuestos:** Retinol ó Vitamina A (Sigma Chemical Co. San Luis, Missouri) y Acido ascórbico ó Vitamina C (Sigma Chemical Co. San Luis, Missouri).

**Control positivo:** Mitomicina C , MMC (Sigma Chemical Co. San Luis, Missouri).

## LINEA DE HEMBRAS

mwh/mwh

## LINEA DE MACHOS

flr<sup>3</sup>/TM3, Ser x flr<sup>3</sup>/TM3, Ser

$\begin{array}{c} \text{♀} \\ \text{♂} \end{array}$	flr <sup>3</sup>	TM3, Ser
flr <sup>3</sup>	flr <sup>3</sup> /flr <sup>3</sup> letal	flr <sup>3</sup> /TM3, Ser serrata
TM3, Ser	flr <sup>3</sup> /TM3, Ser serrata	TM3, Ser/TM3, Ser letal

## CRUZA PROGENITORA

mwh/mwh x flr<sup>3</sup>/TM3, Ser

## PRIMERA GENERACION FILIAL (F1)

mwh + / + flr<sup>3</sup> (Trans-heterocigas)

mwh + / TM3, Ser (Portadora del balanceador)

CUADRO 7. Líneas y cruce progenitora empleada en SMART ala.

**Solventes:** Alcohol etílico al 5% para el retinol, y sacarosa al 5% para la vitamina C y la MMC.

**Medio de cultivo:** Por cada litro de medio de cultivo se emplearon 1250 ml. de agua, 8 gr. de agar-agar (Merck), 70 gr. de azúcar, 100 gr. de harina de maíz, 40 gr. de levadura, 5 ml. de ácido propiónico (Sigma) y 5 ml de nipagin al 10% disuelto en alcohol etílico.

Los cultivos de *Drosophila* se mantuvieron a una temperatura constante de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , en frascos lecheros de 250 ml. con tapón de hule espuma y con iluminación artificial las 24 horas del día.

**Procedimiento experimental:** Para conocer los efectos de los agentes químicos por sí solos y mezclados, se diseñaron tres tratamientos por vía alimenticia (Cuadro 8):

1.-Subcrónico: larvas trans-heterocigas de  $72 \pm 4$  horas se trataron durante 48 horas con:

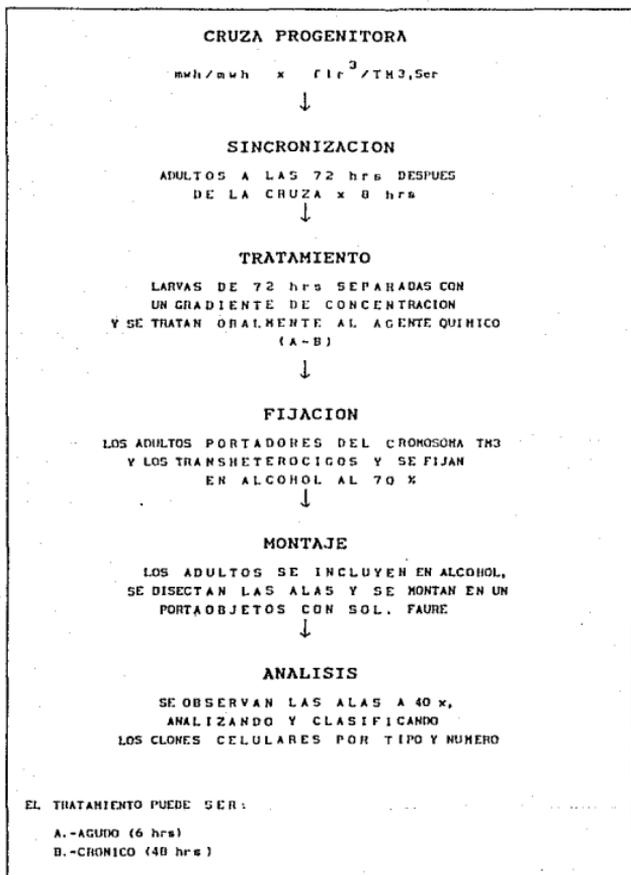
- a) Sacarosa al 5%.
- b) Mitomicina C, 0.325, 0.625 y 1.2 mM
- c) Vitamina C, 10, 100 y 1000 ppm.
- d) Vitamina A, 10, 100 y 1000 ppm.

2.-Mezcla subcrónica: larvas trans-heterocigas de  $72 \pm 4$  horas se expusieron durante 48 horas con una mezcla del mutágeno y de las vitaminas:

- a) Mitomicina C 0.625 mM + Vitamina A 100 ppm.
- b) Mitomicina C 0.625 mM + Vitamina C 100 ppm.

3.-Mezcla aguda-crónico: larvas trans-heterocigas de  $72 \pm 4$  horas. se sometieron durante 6 hrs. con el mutágeno de referencia de manera aguda y después subcrónicamente con las vitaminas:

- a) Mitomicina C a 0.625 mM por 6 hrs. + vitamina C a 100



CUADRO 8. Cronograma de la técnica smart (ALA)

ppm por 42 horas.

b) Mitomicina C a 0.625 mM por 6 horas + vitamina A 100 ppm por 42 horas.

Se analizaron 40 alas (equivalente a 1 000 000 de tricomas) por cada concentración, así como para los testigos paralelos y sus repeticiones respectivas (García Bellido y Merrián, 1971).

Montaje de alas: El montaje y preparación de las alas se realizó mediante los siguientes pasos :

1.-Se separó por el fenotipo a las moscas trans-heterocigas de las portadoras del cromosoma TM3, Ser de la Fl, ya que estas últimas presentan el marcador Ser.

2.-Las trans-heterocigas se fijaron en alcohol al 70%.

3.-Posteriormente se lavaron en agua y se transfirieron a una solución FAURE (30 gr de goma arábica, 20 ml de glicerol, 50 gr de hidrato de cloral y 50 ml de agua).

4.-En esta misma solución las alas de cada mosca fueron separadas desde el mesotórax y montadas según la técnica descrita por Graf et al. (1984).

5.-Las alas se montaron por pares provenientes de un mismo progenitor, incluyéndose como máximo en cada preparación 40 alas, de la 1 a la 20 corresponde a hembras y de la 21 a la 40 a machos (Figura 6).

Análisis microscópico de las alas: Se analizaron las alas de las moscas adultas y se cuantificó con el microscopio óptico a 400X, el número, tamaño y tipo de los clones celulares mutantes en las superficies dorsal y ventral de éstas.

Procedimiento estadístico: El tamaño del clon celular es proporcional al número de divisiones celulares posteriores al momento en que ocurra la alteración (Graf et al. 1984) (Fig. 7). Se comparó el número, la clase, el tamaño y la frecuencia de aparición por ala, obtenido en los lotes testigo y experimentales mediante la prueba de chi-cuadrada de

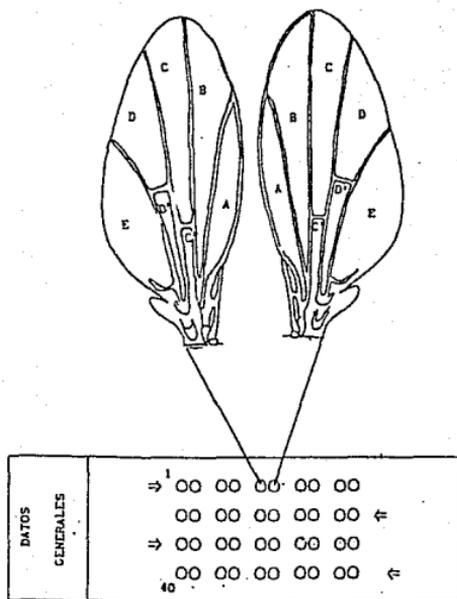


FIGURA 6. Preparación de alas de *Drosophila melanogaster*, mostrando el acomodo, el orden de lectura y las areas en las que se divide el ala para el registro de clones celulares.

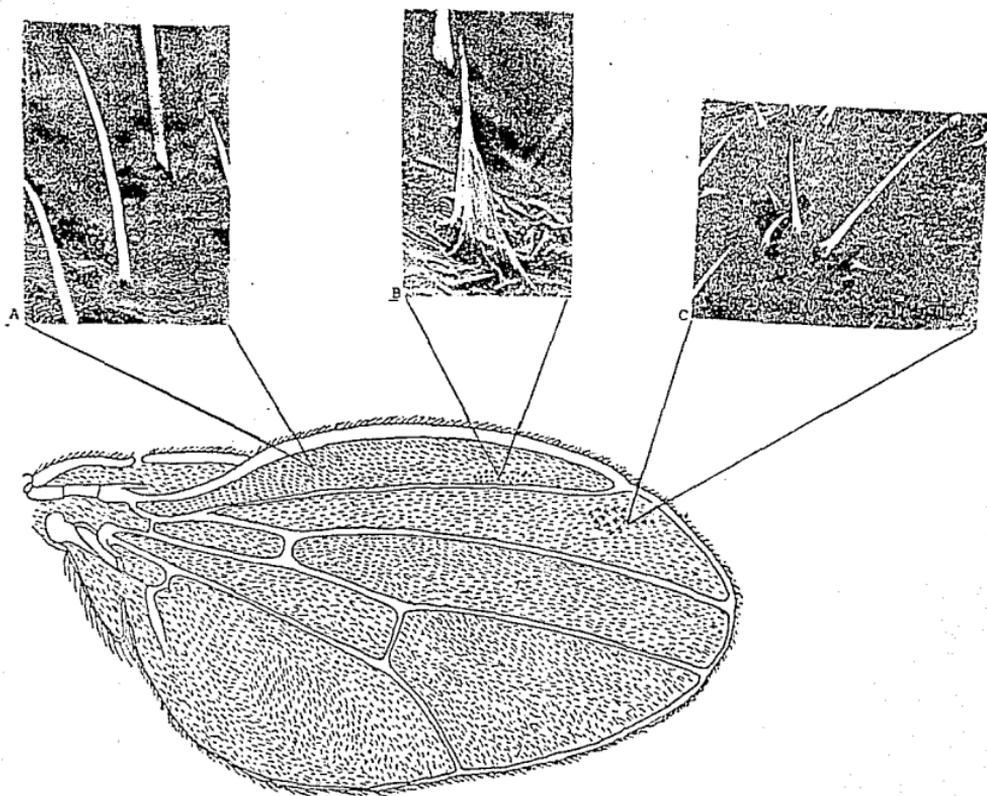


FIGURA 7. Ala de *Drosophila melanogaster* que muestra los fenotipos: (a) silvestre (b)  $flr^3$  (c)  $mwh$

proporciones, con una confiabilidad del 95% (Graf et al. 1984), y mediante el programa de cómputo SMART version PC (Würgler, no publicado).

El método de decisión múltiple de Frei y Würgler (1988) prueba dos hipótesis: la hipótesis nula ( $H_0$ ) postula que las frecuencias de mutación de los lotes testigo y experimental son estadísticamente iguales y, la hipótesis alternativa  $H_A$ , sostiene que la frecuencia de mutación del lote experimental es igual a  $m$  veces la del control; para las manchas chicas (1 a 2 células) y las manchas totales, que tienen una alta frecuencia de aparición,  $m$  es igual a 2. Para las manchas simples grandes y las manchas gemelas, el valor de  $m$  es 5, debido a que su frecuencia es relativamente baja ( Graf et al. 1984).

Como resultado del análisis estadístico se llega a cuatro conclusiones posibles: 1) si se acepta la hipótesis nula y se rechaza la alternativa, el tratamiento es negativo, (-); 2) si se rechaza la nula y se acepta la alternativa, el tratamiento es positivo, (+); 3) si se rechazan ambas hipótesis, tratamiento es débil positivo, ( $d^+$ ) y, finalmente, si se aceptan ambas hipótesis, el resultado es indeterminado (i) (Frei y Würgler 1988).

Para la evaluación del efecto modulador de las vitaminas A y C, ante un mutágeno de referencia, se realizaron experimentos agudos y crónicos con los controles negativos (etanol al 5 % y sacarosa al 5%), con el control positivo (MMC), con las propias vitaminas A y C, y finalmente con las mezclas agudas y crónicas de las vitaminas con el mutágeno de referencia (MMC).

Para cada experimento se realizó una repetición, en cada uno de ellos se corrieron los controles positivos y negativos, al no existir diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre ellos fue posible sumar los resultados obtenidos.

**RESULTADOS:**

Los resultados fueron analizados con ayuda del programa de computo SMART, versión PC (Würgler, no publicado) y comparados mediante la prueba de  $\chi^2$  de proporciones, no encontrándose diferencias significativas entre ambos tratamientos estadísticos en cuanto a las decisiones tomadas.

En la tabla II y en la gráfica 1, se presentan los datos de la distribución de manchas por ala en el tratamiento crónico de la vitamina A, se observa que en el caso de las manchas pequeñas la concentración mayor (1000 ppm), mostró un incremento en la frecuencia basal de manchas por ala de 0.18 a 0.35, el cual no resultó ser estadísticamente significativo, mientras que en el caso de manchas grandes y totales, el aumento resultó estadísticamente significativo.

En la tabla III y en la gráfica 2, se presentan los datos de la distribución de manchas por ala en el tratamiento crónico de la vitamina C, la inducción de manchas pequeñas, grandes y gemelas en todas las concentraciones no fue significativa con respecto a la tasa basal de manchas encontradas en el testigo.

En el caso del testigo positivo (MMC), se hicieron dos tratamientos uno agudo y uno crónico; para el primero se puede observar (Tabla IV y Gráfica 3) una clara relación entre la concentración y la respuesta, siendo positivo el efecto para todos los tipos de manchas en las dos concentraciones mayores (0.625 mM y 1.2 mM). La respuesta en la concentración de 0.312 mM no fue diferente a la espontánea, salvo para el caso de las manchas grandes.

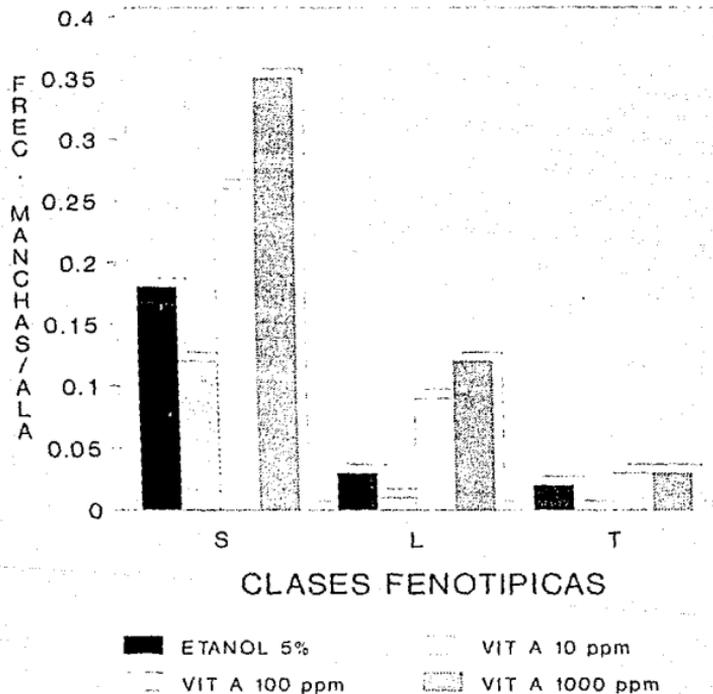
En el caso del tratamiento crónico con MMC existe inducción positiva para los tres tipos de manchas, en las tres concentraciones probadas, existiendo un claro

TABLA II. FRECUENCIA DE MANCHAS POR ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER CON VITAMINA A (CRONICO) EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS) DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEHELAS	TOTAL
		PEQUEÑA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0
TESTIGO					
ETANOL 5%	114	0.18(21)	0.03(03)	0.02(02)	0.23(26)
VIT. A					
10 ppm	80	0.12(10) <sup>-</sup>	0.01(01) <sup>-</sup>	0.00(00) <sup>-</sup>	0.14(11) <sup>-</sup>
100 ppm	80	0.26(21) <sup>i</sup>	0.09(07) <sup>i</sup>	0.03(02) <sup>i</sup>	0.37(30) <sup>+</sup>
1000 ppm	80	0.35(28) <sup>i</sup>	0.12(10) <sup>+</sup>	0.03(02) <sup>i</sup>	0.50(40) <sup>+</sup>

& Diagnostico estadistico de acuerdo a Frei y Würzler (1988)  
 + = Positivo; - = Negativo; d<sup>+</sup> = débil positivo; i = indeterminado;  
 m = factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

GRAFICA 1.FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA  
AL TRATAR A *Drosophila melanogaster*  
CON VITAMINA A (CRONICA)



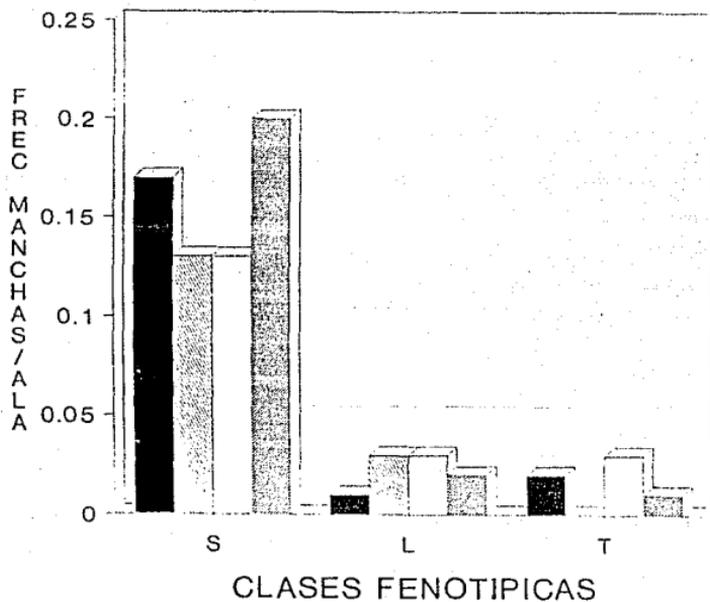
• S(PEQUEÑAS) L(GRANDES) T(GEMELAS)

TABLA III. FRECUENCIA DE MANCHAS POR ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER CON VITAMINA C (CRONICO) EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS) DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEMELAS	TOTAL
		PEQUEÑA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0
TESTIGO SAC. 5%	294	0.17(4)	0.01(1)	0.02(5)	0.21(17)
VIT. C					
10 ppm.	80	0.13(11) <sup>-</sup>	0.03(3) <sup>-</sup>	0.00(0) <sup>-</sup>	0.17(14) <sup>-</sup>
100 ppm	120	0.13(16) <sup>-</sup>	0.03(03) <sup>-</sup>	0.03(03) <sup>-</sup>	0.18(22) <sup>-</sup>
1000 ppm	80	0.20(16) <sup>-</sup>	0.02(2) <sup>-</sup>	0.01(01) <sup>-</sup>	0.23(19) <sup>-</sup>

& Diagnostico estadístico de acuerdo a Frei y Würgler (1988)  
 + = Positivo; - = Negativo; d = débil positivo; i = indeterminado;  
 m = factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

GRAFICA 2. FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA  
AL TRATAR A *Drosophila melanogaster*  
CON VITAMINA C (CRONICO)



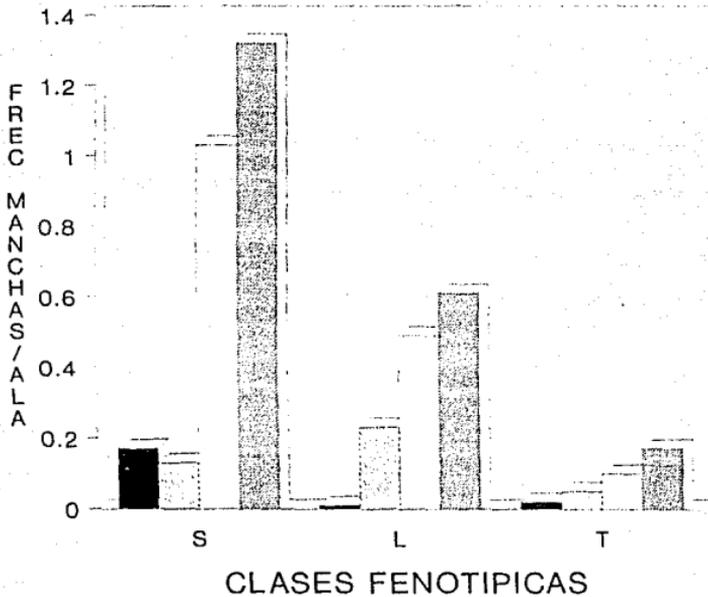
• S (PEQUEÑAS) L (GRANDES) T (GEMELAS)

TABLA IV. FRECUENCIA DE MANCHAS POR ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER CON MITOMICINA C.(AGUDO) EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS) DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEMELAS	TOTAL
		PEQUEÑA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0
TESTIGO					
SAC. 5%	80	0.17 (14)	0.01 (1)	0.02 (2)	0.21 (17)
MHC					
0.312 mM	78	0.13 (10) <sup>-</sup>	0.23 (18) <sup>+</sup>	0.05 (04) <sup>i</sup>	0.41 (32) <sup>i</sup>
0.625 mM	77	1.03 (79) <sup>+</sup>	0.49 (38) <sup>+</sup>	0.10 (08) <sup>+</sup>	1.62 (125) <sup>+</sup>
1.2 mM	69	1.32 (91) <sup>+</sup>	0.61 (05) <sup>+</sup>	0.17 (12) <sup>+</sup>	2.10 (145) <sup>+</sup>

& Diagnostico estadistico de acuerdo a Frei y Würzler (1988)  
 + = Positivo; - = Negativo; d' = débil positivo; i = indeterminado;  
 m =factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

GRAFICA 3. FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA  
AL TRATAR A *Drosophila melanogaster*  
CON MMC AGUDO (CONTROL POSITIVO)



SACAROSA 5%     
  MMC 0.3125 mM  
 MMC 0.625 mM     
  MMC 1.2 mM

S(CHICAS) L(GRANDES) T(GEMELAS)

comportamiento dosis-respuesta. Este resultado es lógico debido a que el tratamiento crónico implica un mayor tiempo de exposición (Tabla V y Grafica 4), el valor mas alto se presentó en las manchas grandes, conservándose la relación dosis-respuesta al igual que el carácter positivo del incremento de la frecuencia de manchas por ala.

Una vez establecidas las curvas dosis respuestas tanto de las vitaminas como del testigo positivo, se procedió a valorar el efecto modulador de las vitaminas con el mutágeno de referencia, para lo cual se realizaron dos tipos de tratamientos en mezcla (Cuadro 8):

a.- Agudo-crónico

b.- Crónico

En el caso del tratamiento agudo-crónico la vitamina A (Tabla VI y Gráfica 5) mostró un efecto modulador para los tres tipos de manchas, el cual solo es estadísticamente positivo para el caso de manchas pequeñas y totales.

La vitamina C en el tratamiento agudo-crónico (Tabla VII y Gráfica 6), también mostró una modulación del efecto de la MMC para los tres tipos de manchas, pero ninguno de los tres tipos de eventos mostró ser estadísticamente significativo.

En el caso del tratamiento crónico, para la vitamina A (Tabla VIII y Gráfica 7) se puede observar claramente la existencia de una mayor modulación del efecto de la MMC para los tres tipos de manchas, siendo esta estadísticamente significativa. Este mismo efecto modulador se observo con la vitamina C sobre la genotoxicidad de la MMC, en los tres tipos de manchas con el tratamiento crónico (Tabla IX y Gráfica 8).

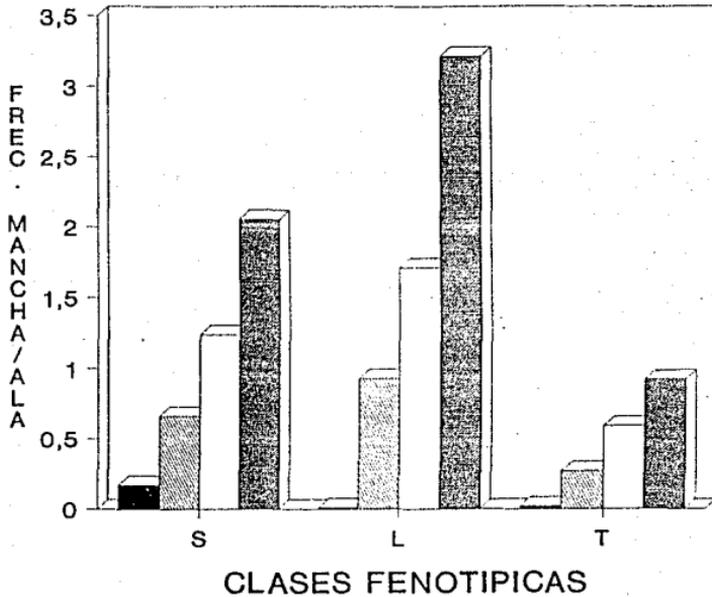
Al comparar el efecto inhibitor de la genotoxicidad de la MMC con los dos tratamientos crónicos, se encontró la vitamina C fue más efectiva.

TABLA V. FRECUENCIA DE MANCHAS POR ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER CON MITOMICINA C (CRONICO) EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS) DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEMELAS	TOTAL
		PEQUERA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0
TESTIGO					
SAC. 5%	294	0.17(14)	0.01(1)	0.02(5)	0.21(17)
MITOMICINA C					
0.31 mM	70	0.66(46) <sup>+</sup>	0.93(65) <sup>+</sup>	0.27(19) <sup>+</sup>	1.86(130) <sup>+</sup>
0.62 mM	160	1.24(199) <sup>+</sup>	1.71(273) <sup>+</sup>	0.59(95) <sup>+</sup>	3.54(567) <sup>+</sup>
1.2 mM	114	2.05(234) <sup>+</sup>	3.21(366) <sup>+</sup>	0.92(105) <sup>+</sup>	6.18(705) <sup>+</sup>

& Diagnostico estadistico de acuerdo a Frei y Würzler (1988)  
 + = Positivo; - = Negativo; d' = débil positivo; i = indeterminado;  
 m = factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

GRAFICA 4. FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA  
AL TRATAR *Drosophila melanogaster* CON  
MITOMICINA C (CRONICO)



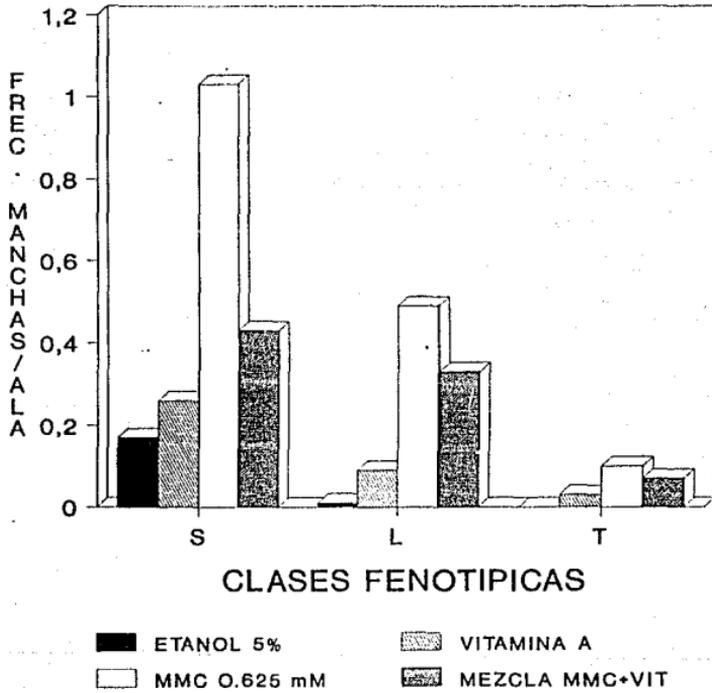
• S (PEQUEÑA) L (GRANDE) T (GEMELAS)

TABLA VI. FRECUENCIA DE MANCHAS / ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER CON VITAMINA A, MITOMICINA C Y SU MEZCLA (AGUDA-CRONICA) EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS) DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEMELAS	TOTAL
		PEQUEÑA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0
<b>TESTIGO</b>					
ETANOL 5%	294	0.21(62)	0.01(1)	0.02(5)	0.27(80)
<b>VIT. A</b>					
100 ppm	80	0.26(21)	0.09(7)	0.03(2)	0.37(30)
<b>MITOMICINA C</b>					
0.62 mM	77	1.03(79)	0.49(38)	0.10(08)	1.62(125)
<b>VIT. A + MMC</b>					
100 ppm/0.62 mM	60	0.43(26) <sup>+</sup>	0.33(20) <sup>-</sup>	0.07(04) <sup>-</sup>	0.83(50) <sup>+</sup>

& Diagnostico estadistico de acuerdo a Frei y Würzler (1988)  
 + = Positivo; - = Negativo; d<sup>+</sup>=débil positivo; i =indeterminado;  
 m =factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

GRAFICA 5. FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA  
AL TRATAR A *Drosophila melanogaster*  
CON MMC Y VIT. A (AGUDO-CRONICO)



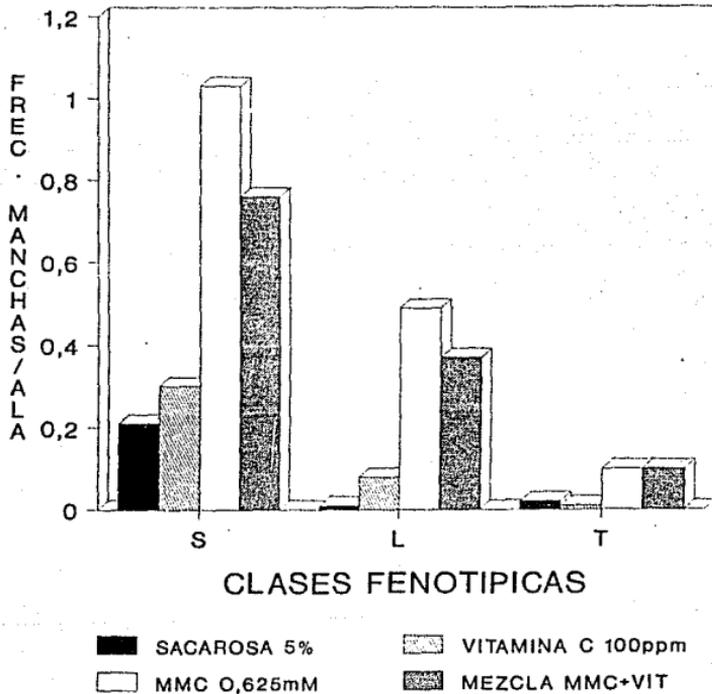
• S(PEQUEÑAS) L(GRANDES) T(GEMELAS)

TABLA VII. FRECUENCIA DE MANCHAS / ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER CON VITAMINA C, MITOMICINA C Y SU MEZCLA (AGUDA-CRONICA) EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS)			
		DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEMELAS	TOTAL
PEQUEÑA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0		
<b>TESTIGO</b>					
SAC.5%	80	0.17(14)	0.01(1)	0.02(2)	0.21(17)
<b>VIT. C</b>					
100 ppm	80	0.30(24)	0.08(06)	0.01(01)	0.39(31)
<b>MITOMICINA C</b>					
0.62 mM	77	1.03(79)	0.49(38)	0.10(08)	1.62(125)
<b>VIT. C + MMC</b>					
100 ppm/0.62 mM	80	0.76(61) <sup>-</sup>	0.37(30) <sup>-</sup>	0.10(08) <sup>-</sup>	1.24(99) <sup>-</sup>

& Diagnostico estadístico de acuerdo a Frei y Würgler (1988)  
 + = Positivo; - = Negativo; d = débil positivo; i = indeterminado;  
 m = factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

GRAFICA 6 FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA  
AL TRATAR A *Drosophila melanogaster*  
CON MMC Y VIT.C (AGUDO CRONICO)



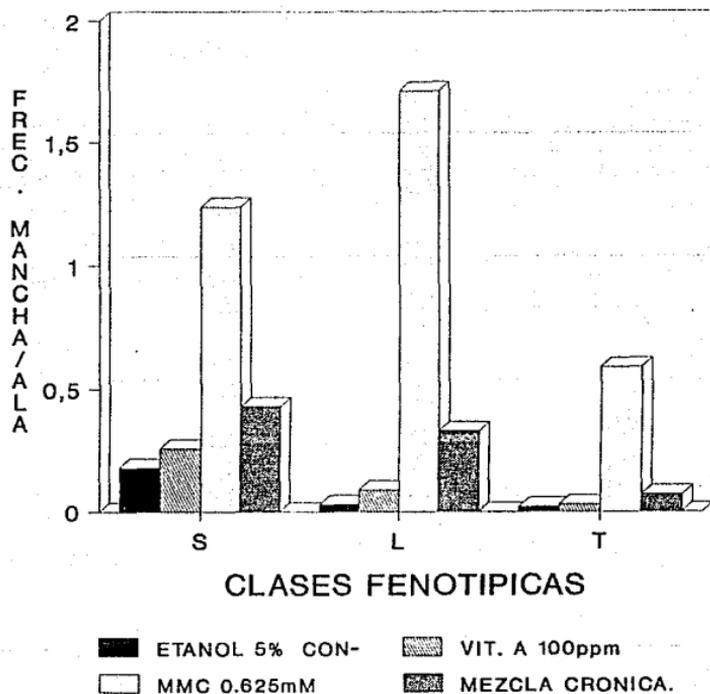
• S(CHICAS) L(GRANDES) T(GEMELAS)

TABLA VIII. FRECUENCIA DE MANCHAS / ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER CON VITAMINA A, MITOMICINA C Y SU MEZCLA (CRONICA) EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS) DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEMELAS	TOTAL
		PEQUEÑA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0
TESTIGO					
ETANOL 5%	114	0.18(21)	0.03(03)	0.02(02)	0.23(26)
VIT. A					
100 ppm	80	0.26(21)	0.09(7)	0.03(2)	0.37(30)
MITOMICINA C					
0.62 mM	160	1.24(199)	1.71(273)	0.59(95)	3.54(567)
VIT. A + MMC					
100 ppm/0.62 mM	60	0.68(41) <sup>+</sup>	0.23(14) <sup>+</sup>	0.10(06) <sup>+</sup>	1.02(61) <sup>+</sup>

& Diagnostico estadistico de acuerdo a Frei y Würgler (1988):  
 + = Positivo; - = Negativo; d<sup>+</sup>=débil positivo; i =indeterminado;  
 m =factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

GRAFICA 7. FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA  
AL TRATAR A *Drosophila melanogaster* CON  
MMC Y VIT. A (MEZCLA CRONICA)



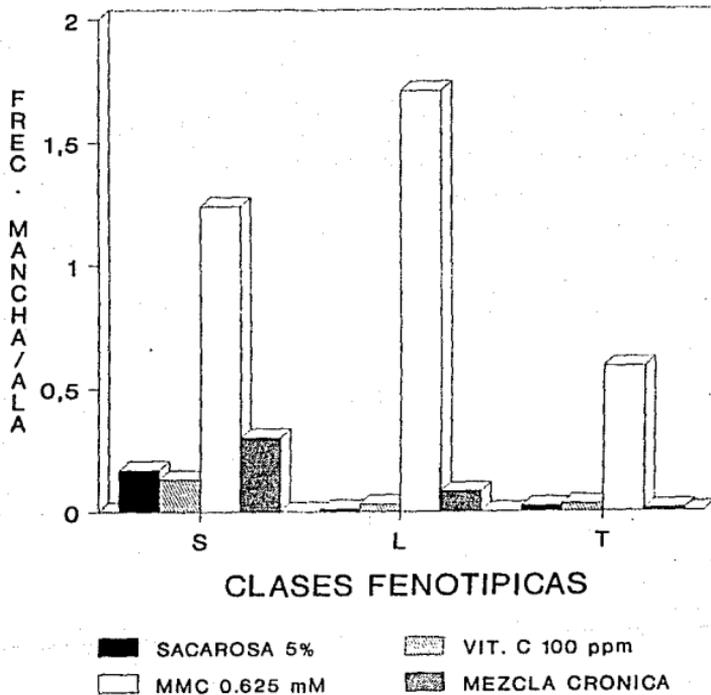
• S(PEQUEÑA) G(GRANDE) T(GEMELAS)

TABLA IX. FRECUENCIA DE MANCHAS / ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER CON VITAMINA C, MITOMICINA C Y SU MEZCLA (CRONICA) EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS) DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEMELAS	TOTAL
		PEQUEÑA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0
<b>TESTIGO</b>					
SAC. 5%	294	0.17(14)	0.01(1)	0.02(5)	0.21(17)
<b>VIT. C</b>					
100 ppm	120	0.13(16)	0.03(03)	0.03(03)	0.18(22)
<b>MITOMICINA C</b>					
0.62 mM	160	1.24(199)	1.71(273)	0.59(95)	3.54(567)
<b>VIT. C + MMC</b>					
100 ppm/0.62 mM	80	0.30(24) <sup>+</sup>	0.08(06) <sup>+</sup>	0.01(01) <sup>+</sup>	0.39(31) <sup>+</sup>

& Diagnostico estadistico de acuerdo a Frei y Würzler (1988)  
 + = Positivo; - = Negativo; d = débil positivo; i = indeterminado;  
 m = factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

GRAFICA 8. FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA  
AL TRATAR A *Drosophila melanogaster* CON  
MMC Y VIT. C (MEZCLA CRONICA)



• S (PEQUEÑAS) L (GRANDES) T (GEMELAS)

## DISCUSION:

El objetivo principal del presente trabajo fue el de determinar si existía un efecto modulador de las vitaminas A y C sobre la genotoxicidad de un mutágeno de referencia, la mitomicina C (MMC), en base a la probable actividad antioxidante de ambas vitaminas. La cual puede bloquear procesos como la desaminación oxidativa de las bases del ADN e incluso inactivar a la ADN polimerasa, lo que se manifiesta como un decremento en la fidelidad de la replicación y/o de la reparación, aunada a la presencia de grupos mono y poli-fenoles (puntos altamente reactivos), característicos de agentes antimutagénicos (De Flora y Ramel, 1988 y Espinosa, 1992).

La valoración del efecto modulador de un agente químico, sobre un mutágeno de referencia, debe basarse en el conocimiento correcto de los mecanismos fisiológicos y moleculares de dicho agente, así como del balance entre sus posibles efectos duales (Andrews et al. 1979; Mita et al. 1982; Alzieu et al. 1987; Gebhart et al. 1985; Raymond y Rauth, 1986). Los factores de inhibición o de modulación de un efecto genotóxico pueden, bajo ciertas condiciones experimentales, inducir efectos adversos, así como toxicidad, mutagénesis y/o carcinogénesis, dependiendo de una o varias causas (Chang et al. 1979; Marshall y Rauth 1986) por ejemplo: la ruta de administración, la concentración, los efectos de sinérgismo, el metabolismo y otros.

Una forma importante de proteger a los seres humanos de los cambios mutagénicos, carcinogénicos y de otros riesgos genotóxicos debidos a condiciones ambientales, se logra al estudiar a los agentes químicos naturales que puedan prevenir o mitigar el impacto genético ambiental, aumentar en lo posible la ingesta de dichos agentes antimutagénicos y disminuir la exposición a mutágenos (Kada et al. 1986).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Un agente anticancerígeno eficaz debe matar o incapacitar a las células cancerosas sin producir daño excesivo a las células normales, esta meta es difícil de conseguir, debido a ello algunos paciente actualmente llegan a sufrir daños colaterales desagradables (Trease y Evans, 1991), por lo que se hace necesario enfatizar más en los estudios de prevención que de tratamiento del cáncer.

Lo anterior es importante debido a que, se ha mencionado que en algunos estados de iniciación del cáncer, se producen por el desbalance entre fuerzas opositoras, como la activación metabólica, la formación de derivados electrofilicos y la generación de especies antioxidantes (De Flora y Ramel, 1988).

La mitomicina C es un antibiotico que ha sido utilizado como un agente antineoplásico, al ser metabolizado, produce metabolitos que pueden actuar como agentes alquilantes monofuncionales o bifuncionales, en este caso funciona como un agente que induce ligamientos cruzados inter o intrabanda, por lo que se le ha clasificado como un promutágeno recombinogénico ( De Serres y Shelby, 1981), razones por las cuales fue elegido como control positivo en el diseño experimental del presente trabajo.

Como se muestra en las tablas IV y V la relación dosis-respuesta en el tratamiento agudo de la mitomicina C es consistente, sin embargo hay que hacer notar que en la concentración más baja que corresponde a 0.312 mM la respuesta no fue significativamente distinta a la del testigo negativo en el tratamiento agudo-crónico, mientras que en el tratamiento crónico esta relación dosis-respuesta se mantiene y es significativa en las tres concentraciones probadas. Por lo que se eligió la concentración de 0.625 mM que produjo 1.6 manchas por ala en el tratamiento agudo-crónico y 3.54 en el crónico,

número de manchas que resulta ser estadísticamente significativo y que permite realizar un análisis microscópico de las manchas fácil y reproducible.

En cuanto a las formas de exposición seleccionada, es importante destacar que el tratamiento agudo-crónico se eligió con el propósito de garantizar que el promutágeno estuviera presente a nivel intracelular y que fuera biotransformado, antes de interactuar con los agentes antioxidantes. En este trabajo se utilizó el tratamiento crónico para evitar una doble manipulación de las larvas y comparar los efectos moduladores de las vitaminas en ambos tipos de tratamientos.

La doble manipulación de las larvas puede provocar una inhibición parcial del metabolismo, inducir una pronta pupación y alargar la metamorfosis, lo cual se puede manifestar en una respuesta diferente y en una interpretación incorrecta.

Al comparar ambos tipos de tratamientos, se encontró que en la mezcla crónica la respuesta fue mas consistente que en la aguda-crónica, sin embargo la inhibición o modulación del efecto genotóxico inducido por la mitomicina C se pudo apreciar para ambas vitaminas.

En el caso de la vitamina A se mostró que modula la aparición de manchas pequeñas y totales, en la mezcla aguda-crónica. En el tratamiento crónico, la respuesta fue mucho mayor, es decir, positiva tanto para manchas sencillas y gemelas, la inhibición para manchas chicas fue de la mitad, las de las manchas chicas 7 veces y de las gemelas de 6 veces, mientras que en el agudo-crónico en el caso de las manchas chicas fue de la mitad al igual que para manchas totales (Tablas VI y VIII).

Dichos resultados hacen pensar que el mecanismo de acción fue a nivel intracelular (antimutágeno), por medio de una inhibición del agente mutágeno inmediatamente después de que fue metabolizado, gracias a que la vitamina A tiene capacidad antioxidante, atrapando radicales y/o interactuando con los grupos reactivos de los compuestos mutagénicos (Ong et al. 1986 y Waters et al. 1990).

En el caso de la vitamina C, existe también una modulación del efecto genotóxico de la MMC, para ambos tratamientos, sin ser estadísticamente significativo para la mezcla aguda-crónica (Tabla VII). Mientras que para la mezcla crónica, esta modulación sí muestra un valor significativo desde el punto de vista estadístico, tanto para manchas simples (chicas y grandes), como para manchas gemelas (Tabla IX). La acción moduladora de la vitamina C es más eficiente en la mezcla crónica que en la aguda-crónica, tal como se presentó para la vitamina A. Esto puede deberse a que el tratamiento crónico permite una mayor exposición temporal tanto a las vitaminas como al promutágeno, permitiendo que ambos sean metabolizados.

El producto metabólico de la vitamina C es el ascorbato que como es 230 veces más eficiente en su capacidad antioxidante que la vitamina C (Sidney y Mirvish, 1986 y Farias, 1988).

Por lo anterior se concluye que el efecto modulador de las vitaminas se puede deber a un mecanismo antimutagenico por sus propiedades antioxidantes ya que pueden atrapar radicales libres y/o interactuar con los grupos activos de la MMC (Kvale et al. 1983, y Pastorino et al. 1991).

En las tablas X y XI, se resumen los resultados por tratamiento con ambas vitaminas, las que mostraron un efecto

TABLA X. FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER MITOMICINA C Y SU MEZCLAS (AGUDA-CRONICA) CON VITAMINAS A Y C EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS) DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEMELAS	TOTAL
		PEQUEÑA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0
<b>MITOMICINA C</b>					
0.62 mM	77	1.03 (79)	0.49 (38)	0.10 (08)	1.62 (125)
<b>VIT. C + MMC</b>					
100 ppm/0.62 mM	80	0.76 (61) <sup>-</sup>	0.37 (30) <sup>-</sup>	0.10 (08) <sup>-</sup>	1.24 (99) <sup>-</sup>
<b>VIT. A + MMC</b>					
100 ppm/0.62 mM	60	0.43 (26) <sup>+</sup>	0.33 (20) <sup>-</sup>	0.07 (04) <sup>-</sup>	0.83 (50) <sup>+</sup>

& Diagnostico estadístico de acuerdo a Frei y Würzler (1988)  
 + = Positivo; - = Negativo; d = débil positivo; i = indeterminado;  
 m = factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

TABLA XI. FRECUENCIA DE MANCHAS/ALA AL TRATAR A DROSOPHILA MELANOGASTER CON MITOMICINA C Y SU MEZCLAS (CRONICA) CON VITAMINA A Y C EN SMART.

COMP. [ ]	# ALAS	MANCHAS POR ALA (NUMERO DE MANCHAS) DIAGNOSTICO ESTADISTICO &			
		SENCILLA		GEMELAS	TOTAL
		PEQUEÑA m=2.0	GRANDE m=5.0	m=5.0	MANCHAS m=2.0
<b>MITOMICINA C</b>					
0.62 mM	160	1.24(199)	1.71(273)	0.59(95)	3.54(567)
<b>VIT. C + MMC</b>					
100 ppm/0.62 mM	80	0.30(24) <sup>+</sup>	0.08(06) <sup>+</sup>	0.01(01) <sup>+</sup>	0.39(31) <sup>+</sup>
<b>VIT. A + MMC</b>					
100 ppm/0.62 mM	60	0.68(41) <sup>+</sup>	0.23(14) <sup>+</sup>	0.10(06) <sup>+</sup>	1.02(61) <sup>+</sup>

& Diagnostico estadistico de acuerdo a Frei y Würqler (1988)  
 + = Positivo; - = Negativo; d<sup>+</sup>=débil positivo; i =indeterminado;  
 m =factor de multiplicación. Nivel de probabilidad: alfa= beta=0.05  
 (prueba estadística de una cola)

inhibidor de la genotoxicidad de la MMC. La vitamina A fue muy consistente en ambos tratamientos, sin embargo, el efecto de inhibición fue más eficiente para la vitamina C en el tratamiento crónico. Este resultado es similar al descrito por Calle y Sullivan (1982) quienes administraron las vitaminas en experimentos independientes sin el testigo positivo en la prueba de reversión de histidina en *Salmonella typhimurium*.

El efecto modulador de las vitaminas fue diferente en ambos tratamientos, siendo mas fuerte en el crónico para ambas vitaminas.

El tratamiento crónico por lo tanto puede ser recomendado para valorar tanto mezclas complejas, como los efectos moduladores inducidos por agentes químicos sobre mutágenos de referencia, así mismo se corroboró la sensibilidad, el facil manejo y la clara respuesta del sistema SMART

**CONCLUSIONES:**

- 1.- Se propone a SMART como un modelo ideal para valorar el efecto genotóxico de mezclas complejas
- 2.- Los tratamientos utilizados en el presente trabajo mostrarán respuestas consistentes, sin embargo la mezcla crónica mostró ser mas efectiva.
- 3.-Se mostró una modulación de la actividad genotóxica de la mitomicina C (MMC), por las vitaminas A y C.
- 4.-La vitamina A fue mas consistente en ambos tipos de tratamientos, sin embargo la vitamina C inhibio más eficientemente la genotoxicidad inducida por la mitomicina C (MMC) en el tratamiento crónico.

## BIBLIOGRAFIA:

- Albert, L. (1988) Toxicología. Limusa. México. 308 p.
- Alzieu, P., P. Cassand, C. Colin, P. Grolier y J.F. Narbonne (1987) Effect of vitamins A, C and glutathione on the mutagenicity of benzo[a]pyrene mediated by S9 from vitamin A-deficient rats, Mutation Res. 192:227-231.
- Andrews, L.S., J.M. Fysh, J.A. Hinson y J.R. Gillete (1979) Ascorbic acid inhibits covalent binding of enzymatically generated 2-acetyl-aminofluorene-N-sulfate to DNA under conditions in which it increase mutagenesis in *Salmonella* TA-1538. Life Sci., 24:59-64
- Ames, B. (1983) Dietary carcinogens and anticarcinogens. Science 221:1256-1264.
- Auerbach, C. (1945) The problem of chromosome rearrangements in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Proc. R. Soc. Endinburgo. 62: 120-127.
- Becker, H.J. (1975) Mitotic recombination. En: The genetic and biology of *Drosophila*. Ashburner, M. y E. Novitski. Academic Press. Londres, 1b 1500 pp.
- Cairns, J. (1981) The origin of humans cancers. Nature 289:353-357.
- Calle, L.M. y P.D. Sullivan (1982) Screening of antioxidants and other compounds for antimutagenic properties towards benzo[a]pyrene induced mutagenicity on strain TA98 of *Salmonella thyphimurium*. Mutation Res. 101:99-114.
- Carr B.I. (1985) Chemical carcinogens and inhibitors of carcinogenesis in the human diet. Cancer 55:218-224.

Carranza, R. (1990) Manual de medicamentos Cuadro básico del Sector Salud. Facultad de Medicina. U.N.A.M. México. 365 p.

Chandley, A.C. y A.J. Bateman (1962) Timing of spermatogenesis in *Drosophila melanogaster* using triitated thymidine. Nature 20: 299-300.

Chang, S.K., G.W. Harrington, M. Rothstein, W.A. Shergalis y S.K. Vohra (1979) Antimutagenesis. Cancer Res. 39:3871-3874.

Croce, C.M., y H. Koproński (1978) La genética del cáncer humano. Investigación y Ciencia 19:68-77.

Delgado, A. (1990) Daño genético inducido por mutágenos positivos en células de ala de *Drosophila melanogaster*. Tesis licenciatura Biología. Facultad de Ciencias UNAM. México. 49 p.

De Flora, S y C. Ramel (1988) Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview. Mutation Res. 202:285-306.

Demerec, M. (1965) Biology of Drosophila. Hafner Publishing Company. Nueva York. 633 p.

De Serres, F. y M. Shelby (1981) Comparative chemical mutagens. Plenum press. Nueva York. pp 182-226.

Espinoza, A.J. (1992) Mesa redonda I. Antimutagenesis. III Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Genética y IV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental. Mazatlan, México.

Fahmy, M. y G. Fahmy (1970) Altered control of gene activity in the soma by carcinogens. Mutation Res. 22: 165-172.

Farias, G. (1988) Química Clínica. Manual Moderno, México, 682 p.

Frei, B., R. Stocker y B. Ames (1988) Antioxidants defense and lipid peroxidation in human plasma. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:9748-9752.

Frei, H.J. y F.E. Würgler (1988) Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result. Mutation Res. 203:297-308.

Frei, B., L. England y B. Ames. (1989) Ascorbate in an outstanding antitioxidat in human blood plasma. Pro. Natl. Acad. Sci. USA 86:6377-6381

Garcia Bellido, A. y J.R. Merriam (1971) Parameters of the wing imaginal disc development of *Drosophila melanogaster*. Development Biology. 24:61-87.

Garcia-Bellido, A. y J. Dapena (1974) Induction, detection and characterization of cell diferentiation mutants in *Drosophila*. Molec. Genet. 128:117-130.

Gebhart, E.H., K. Wagner, K. Grziwok y H. Benhensen (1985) The action of anticlastogens in human lymphocyte culture and their modification by rat-liver s9 mix, II. Studies with vitamins C and E. Mutation Res. 149:83-94.

Graf, U., A. Juon, A. Katz, H. Frei y F. Würgler (1983) A pilot study on a new *Drosophila* spot test. Mutation Res. 120:233-239.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Graf, U., F.E. Würigler, A.J. Katz, H. Frei, H. Juon, C.B. Hall, y P.G. Kale (1984) Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. Environ. Mut. 6:153-188.

Hartman, P., y D. Shankel (1990) Antimutagens and carcinogens: a survey of putative interceptor molecules. Environ. Mol. Mut. 15:145-182.

Hellman, K. (1972) Anticancer drugs. Chem. Brit. 8:69-72.

Index Merck (1989) An enciclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 11<sup>ava</sup> Ed. Rahway N.J. EUA.

Jaime, F.M. (1990) Estudio cuantitativo del contenido hepatico de vitamina A en la rata albina a diferentes edades. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM: México. 84 pp.

Jain, A., K. Shimoi, T. Kada, Y. Hara e I. Tomita (1989) Crude tea extracts decrease the mutagenic activity of N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine *in vitro* and in intragastric tract of rats. Mutation Res. 210:1-8

Kada, T. (1982) Desmutagens: an overview. En: H.F. Stich Carcinogens and mutagens in the environment (Ed). Hollander II:63-67

Kada, T., S. Yasunhiko, I. Nobouy M. Nomoto (1986). Detection of natural bio-antimutagens and *in vivo* and *in vitro* analysis of their action. En Genetic toxicology of environmental chemicals, part A .Basic principles and mechanisms of action. pp. 385-393.

Knudson, G. (1989) The genetic predisposition to cancer. En: Genetic suceptibility to environmental mutagens and carcinogens. (Eds) Bloom, A., L. Spatz y N. Paul White Plains Ed. Nueva York. 93 pp.

Kvale, G., E. Bjelke y J. Gart (1983) Dietary habits and lung cancer risk. *Int. J. Cancer.* 31: 397-405.

Lai, C.H. (1980) Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. *Mutation Res.* 77:245-250.

Lindsley, D. L. y R. Grell (1968) Genetic variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Institution of Washington. Publication. Washington. 472 p.

Lindsley, D. y L. Zimm. (1990) The genome of *Drosophila melanogaster*. Part 1. *Drosophila Information Service* 62:225.

Logan, J. y J. Cairns (1982) The secrets of cancer. *Nature* 300: 104-105.

Marshall, R.S. y A.M. Rauth (1986) Modification of the cytotoxic activity of mitomycin C by oxygen and ascorbic acid in Chinese hamster ovary cells and a repair-deficient mutant. *Cancer Res.* 46:2709-2713.

Mita, S., Y. Yamazoe, T. Kamataki y R. Kato (1982) Effects of ascorbic acid on the nonenzymatic binding to DNA and mutagenicity of N-hydroxylated metabolite of a tryptophan-pyrololysis product. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 105: 1396-1401.

Ong, T., W-Z. Whong, J.D. Stewart y H.E. Brockman (1986) Chlorophyllin: a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixtures. *Mutation Res.* 173:111-115.

Ong, T., W. Whong, J.D. Stewart y H.E. Brockman. (1989) Comparative antimutagenicity of 5 compounds against 5 mutagenic complex mixtures in *Salmonella typhimurium* strain TA98. *Mutation Res.* 222: 19-25.

Pastorino, V., G. Chiesa, M. Infante, E. Soresi. M. Clereci, M. Valente, P. Belloni y G. Travis (1991) Safety of high-dose Vit. A. *Oncology* 48: 131-137.

Qin, S y C. Huang (1985) Effect of retinoids on carcinogen induced mutagenesis in *Salmonella* tester strains. *Mutation Res.* 142: 115-120.

Ramel, C. (1986) Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis En: Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanisms, (Eds.) D.M. Shakel, P.E. Hartman, T. Kada y A. Hollander Plenum Press, Nueva York, pp. 511-517.

Raymond, S., C. Corlett, D. Beamand y L. Kasten (1989) Antioxidants reduce the mutagenic effects of malonaldehyde and B-propionolactone. *Mutation Res.* 66:349-355.

Reynolds, J. E. (1989) Martinalde; The extra pharmacopeia, 29 ed. The Pharmaceutical Press, London. 1896 p.

Sainsbury, M. (1979) Natural products in the fight against cancer. *Chem. Brit.* 15:127-130.

Salceda, V. M. (1984) Genética de Drosophila. Técnicas de Laboratorio. Limusa. México. 97 p.

Salmon, S. E. y A. Sartorelli (1990) Quimioterapia del cáncer. En: Katzung B.G. Farmacología básica y clínica, 3a ed. El manual moderno. México. pp 122-130.

Scheve, M.J., D.T. Suzuki y E. Udo (1971) The genetic effects of mitomycin C in *Drosophila melanogaster* II. Induced meiotic recombination. *Mutation Res.* 12:269-279.

Shamberger, R., C. Corlett, K. Beaman y B. Kasten (1979) Antioxidants reduce the mutagenic effect of malonaldehyde and B-propionolactone. *Mutation Res.* 66: 349-355.

Sidney, S y P. Mirvish (1986) Effects of vitamins C and E on N-Nitroso compound formation, carcinogenesis, and cancer. *Cancer* 58:1824-1850.

Sporn, M.B. y A.B. Roberts (1983) Role of retinoids in differentiation and carcinogenesis. *Cancer Res.* 43:3034-3040.

Stich, H.F. (1983) Carcinogens and mutagens in the environment. CRC Press. E.U. 200 p.

Stich, H.F., S. Tsang, y B. Parčić. (1990) The effect of retinoids, carotenoids and phenolics on chromosomal instability of bovine papillomavirus DNA-carrying cells. *Mutation Res.* 241:387-393.

Szabad, J., I. Soons, G. Polgar y G. Hejja. (1983) Testing the mutagenicity of malonaldehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mosaic and the sex-linked recessive lethal test. *Mutation Res.* 113: 117-133.

Travis, C. (1988) Carcinogen risk assessment. Plenum Press. Nueva York 207 p.

Trease, A. y J. Evans (1991) Farmacognosia. Ed. Interamericana-Mc Graw Hill. México. 901 p.

Valencia, R., S. Abrahamson, W.R. Lee, E.S. Von Halle, R.C. Woodruff, F.E. Würgler y S. Zimmering (1984) Chromosome mutation test (SCLT) for mutagenesis in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Res.* 134:61-88.

Vega, S. (1985) Evaluación epidemiológica de riesgos causados por agentes químicos ambientales. Toxicología IV. Carcinogénesis química. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud. 10:1-47.

Vogel, E. (1975) Some aspects on the detection of potential mutagens in *Drosophila*. *Mutation Res.* 29: 241-250.

Vogel, E y A. Szakmáry (1990) Basic principles and evaluation of results of assays measuring genotoxic damage in somatic cells of *Drosophila*. En: Mutation and the Environ. Wiley-Lis, Inc. pp 149-158.

Waters, M.D., A.L. Brady, H.F. Stact, y H.E. Brockman. (1990) Antimutagenicity profiles for some model compounds. *Mutation Res.* 238:57-85.

Wilkins, A.S. (1985) Genetic analysis of animal development. John Wiley and Sons (Eds). Nueva York. 1500 p.

Würgler, F., F. Sobels, y E. Vogel (1986) *Drosophila* as an assay system for detecting genetic changes. En: Handbook of mutagenicity test procedures. Elsevier/North Holland, Amsterdam. pp.555- 601.

Würgler, F., y E.W. Vogel. (1987) In vivo mutagenicity testing using somatic cells of *Drosophila melanogaster*. En: F.J. De Serres (Ed.) Chemical mutagens, Principles and methods for their detection, Plenum Press, Nueva York. Vol. 10 :1-72.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Zijlstra, J.A. (1984) Bioactivation and inactivation of mutagens in *Drosophila melanogaster*. Mutation Res. 130:276-322.

Zimmering, S. (1976) Selected methodologies for mutagenicity testing in *Drosophila melanogaster*. Brown University. pp. 1-26.

RELACION DE CUADROS, GRAFICAS, FIGURAS Y TABLAS  
EN ORDEN CRONOLOGICO

TABLA I. MECANISMOS DE LA INHIBICION DE LA MUTAGENESIS Y DE LA CARCINOGENESIS PAG 8
CUADRO 1. GENERALIDADES VITAMINA A PAG 10
CUADRO 2. METABOLISMO DE LA VITAMINA A PAG 11
CUADRO 3. GENERALIDADES VITAMINA C PAG 13
CUADRO 4. INACTIVACION DE LAS REACCIONES DE NITROSACION POR LA VITAMINA C PAG 14
CUADRO 5. METABOLISMO VITAMINA C PAG 16
CUADRO 6. DATOS GENERALES MUTGENO DE REFERENCIA PAG 18
FIGURA 1. CICLO DE VIDA DE <i>Drosophila melanogaster</i> PAG 20
FIGURA 2. EVENTOS RECOBRADOS CON LA PRUEBA DE SMART PAG 21
FIGURA 3. DISCOS IMAGALES Y SU CORRESPONDENCIA EN ADULTO PAG 23
FIGURA 4. ORIGEN DE UN CLON CELULAR PAG 25
FIGURA 5. AREAS DEL ALA NO LEGIBLES PAG 26
CUADRO 7. LINEAS Y CRUZA PROGENITORA UTILIZADA SMART/ALA PAG 29
CUADRO 8. CRONOCRAMA SMART/ALA PAG 31
FIGURA 6. PREPARACION DE UN ALA DE <i>Drosophila</i> PAG 33
FIGURA 7. FENOTIPOS ALA PAG 34
TABLA II VITAMINA A CRONICO PAG 37
GRAFICA 1 VITAMINA A CRONICO PAG 38
TABLA III VITAMINA C CRONICO PAG 39
GRAFICA 2 VITAMINA C CRONICO PAG 40
TABLA IV MITOMICINA C AGUDO PAG 41
GRAFICA 3 MITOMICINA C AGUDO PAG 42
TABLA V MITOMICINA C CRONICO PAG 44
GRAFICA 4 MITOMICINA C CRONICO PAG 45
TABLA VI MEZCLA AGUDA CRONICA HMC/VIT A PAG 46
GRAFICA 5 MEZCLA AGUDA CRONICA HMC/VIT A PAG 47
TABLA VII MEZCLA AGUDA CRONICA HMC/VIT C PAG 48
GRAFICA 6 MEZCLA AGUDA CRONICA HMC/VIT C PAG 49
TABLA VIII MEZCLA CRONICA HMC/VIT A PAG 50
GRAFICA 7 MEZCLA CRONICA HMC/VIT A PAG 51
TABLA IX MEZCLA CRONICA HMC/VIT C PAG 52
GRAFICA 8 MEZCLA CRONICA HMC/VIT C PAG 53
TABLA X SUMATORIA MEZCLA AGUDA CRONICA DE HMC/VIT A Y C PAG 58
TABLA XI SUMATORIA MEZCLA CRONICA DE HMC/VIT A Y C PAG 59