

133
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ACTIVIDAD MUTAGENICA DE ALGUNOS HIDROCARBUROS
AROMATICOS POLICICLICOS Y SUS NITRODERIVADOS,
EVALUADA MEDIANTE LA PRUEBA DE MUTACION Y
RECOMBINACION SOMATICAS (SMART) EN EL ALA DE
Drosophila melanogaster

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

RAQUEL ORTIZ MARTTELO

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

1993



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.

CONTENIDO

RESUMEN	ii
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIALES Y METODOS	8
III. RESULTADOS	18
IV. DISCUSION	20
V. CONCLUSIONES	24
VI. REFERENCIAS	26
TABLAS	48
FIGURAS	57

RESUMEN

La inducción de manchas en las alas de *Drosophila melanogaster* que es la expresión fenotípica de una de las pruebas de mutación y recombinación somáticas (SMART) permitió evaluar los efectos producidos por algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), utilizando las cruzas estándar (E) y de alta bioactivación (AB). Larvas de 72 h de edad fueron tratadas crónicamente con diversas concentraciones de: Naftaleno, 1-Nitronaftaleno, 1,5-Dinitronaftaleno, Antraceno, 9-Nitroantraceno y Fenantreno. El testigo negativo fue 5% Tween 80 y 5% Etanol y los testigos positivos: 7,12-Dimetilbenzo(a)antraceno (DMBA) y N-Nitrosopirrolidina (NNP). El procesamiento estadístico se hizo por medio de la prueba de χ^2 con la corrección de Yates y del programa de cómputo de Würgler y Frei con $P = 0.05$. Los tipos de manchas analizados fueron simples (mwh ó flr) chicas (1 a 2 células) y grandes (más de 2 células) y dobles (mwh y flr). Las manchas simples (chicas o grandes) se originan por mecanismos de mutación génica, delección, recombinación y no disyunción, y las dobles únicamente por recombinación. Con todas las sustancias y sus concentraciones probadas, las manchas simples chicas fueron las más abundantes y aportaron la mayor contribución a las manchas totales. La respuesta siempre fue mayor para la craza de alta bioactivación (AB) que para la estándar (E). En la craza E, las manchas totales originadas por Naftaleno, 1-Nitronaftaleno, 1,5-Dinitronaftaleno y Antraceno presentan al menos dos concen-

traciones positivas; para manchas simples chicas y totales sólo el 9-Nitroantraceno provocó respuesta positiva en todas las concentraciones y únicamente el Fenantreno fue totalmente negativo. Con la cruz a AB, todos los HAP fueron positivos para manchas simples chicas y totales, exceptuando en estas últimas a la concentración más alta de Antraceno y a la de 5 mM de 9-Nitroantraceno (además las dos mayores de este compuesto fueron dudosas), en esta misma cruz a, el único compuesto de todos los probados que además de manchas simples chicas, indujo grandes y dobles fue el Naftaleno, lo que demuestra su actividad recombinagénica. Las frecuencias para manchas totales obtenidas con 1,5-Dinitronaftaleno en aquellas concentraciones en que hubo respuesta positiva en la cruz a E, son equivalentes a las observadas con las mismas concentraciones en la AB.

En general, Naftaleno, Antraceno y Fenantreno se manifiestan mediante la prueba SMART como mutágenos indirectos mientras que sus derivados nitros son de acción directa, aunque para el 1-Nitronaftaleno, la activación metabólica incrementa sus efectos mutagénicos, lo que significa que se comporta también como promutágeno.

INTRODUCCION

En algunos ambientes la contaminación es de tal magnitud que se hace urgente la protección del hombre, de los animales y de las plantas contra sus efectos nocivos. Es importante para ello identificar las sustancias que producen estos danos y el conocimiento de la frecuencia con la que aparecen en el medio; se sabe que en el aire y en los alimentos existen compuestos tóxicos que pueden afectar la salud humana, algunos de ellos pertenecen a la clase química de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y cumplen con los criterios para clasificarlos como peligrosos, es decir, se distribuyen ampliamente en la atmósfera y en varias especies animales han demostrado su capacidad de inducir cáncer (Grimmer 1983). Sin embargo, no todos los HAP a los que puede estar expuesto el hombre han sido estudiados a fondo, a pesar de que éstos y los óxidos de nitrógeno están presentes en la combustión incompleta de los derivados del petróleo (Pitts *et al.* 1978, Rosenkranz *et al.* 1980), de estos últimos se calcula que se descargan anualmente en la atmósfera 3 millones de toneladas como resultado de las actividades antropogénicas (Tong y Karasek 1984, Carey 1986) y aproximadamente 1000 toneladas de HAP, pero en las áreas industriales el volumen puede llegar a ser hasta 10 000 veces más alto que el encontrado en las ciudades (Haugen *et al.* 1988). En investigaciones realizadas con diferentes muestras de fases gaseosa y particulada se obtuvieron los siguientes HAP, detectados con cromatografía de gases y con espectrometría de

masas, que de acuerdo con su abundancia fueron: Naftaleno > Fluoreno > Fenantreno > Fluoranteno > Pireno > Benzo(a)pireno (Henderson et al. 1980, 1981, Arey et al. 1992).

Numerosos compuestos aromáticos y sus nitroderivados son mutagénicos para *Salmonella typhimurium* y carcinogénicos en animales experimentales (Miller et al. 1955, Deichmann et al. 1958, Cohen et al. 1973, McCann et al. 1975, Rosenkranz y Speck 1975, Yahagi et al. 1975, Clayson y Garner 1976, Chin et al. 1978, Chiu et al. 1978, Wang et al. 1978, Takahashi et al. 1979). Probablemente el efecto producido por los nitro HAP se debe precisamente a la reducción de dicho grupo (Blumer et al. 1980).

El Naftaleno es uno de los más abundantes, debido a su pequeño peso molecular no se encuentra en la fase particulada pero sí en la gaseosa de los aerosoles, además se sabe que provoca envenenamiento por inhalación, ingestión o absorción a través de la piel, causando náuseas, vómito, dolor de cabeza, fiebre, anemia hemolítica, necrosis hepática, convulsiones y coma. Es tóxico para las larvas del sapo de unas de Sudáfrica (*Xenopus laevis*), éste organismo ha sido utilizado para detectar la toxicidad de metales pesados, plaguicidas y otras sustancias (Edmisten y Bantle 1982). Cuando se pone al lenguado (*Parophrys vetulus*) en contacto con sedimento contaminado con aceite crudo, se observa que dicho pez almacena el Naftaleno en sus tejidos (Varanasi y Gmur 1981); en otro estudio, también con lenguados (*Platichthys stellatus*), se hizo evidente su toxicidad y la dificultad para excretarlo (Gruger et al. 1981).

Entre los nitroderivados del Naftaleno se pueden mencionar al 1-Nitronaftaleno y al 2-Nitronaftaleno que son mutagénicos, con y sin activación metabólica, para *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100 (McCann et al. 1975, Benkendorf 1978, Wang et al. 1978, El-Bayoumy et al. 1981). Del primero también se conoce la acción de uno de sus metabolitos, N-Hidroxi-1-naftilamina, que induce tumores en animales experimentales (Poirier y Weisburger 1974, Johnson y Cornish 1978, El-Bayoumy y Hecht 1982). No produce cáncer ni es tóxico en ratones y en ratas por vía oral (National Cancer Institute 1978), sin embargo, la inyección intraperitoneal en éstas últimas provoca hepatotoxicidad y necrosis de las células *claras* del pulmón (Johnson et al. 1984, Rasmussen 1986). No hay datos que demuestren su carcinogenicidad en humanos (IARC 1987).

Los aductos de ADN formados por 1-Nitronaftaleno son químicamente distintos de los que se derivan de 2-Nitronaftaleno y para que éstas sustancias expresen su mutagenicidad, se requiere que las hidroxilaminas sean reducidas; las diferencias cuantitativas y cualitativas en la respuesta mutagénica pueden deberse a esos aductos, que se identifican al seguir la reacción de hidroxil-amino-naftalenos con ADN (McCoy et al. 1981).

El 1,5-Dinitronaftaleno es mutagénico para *Salmonella typhimurium* TA97 y TA98 y para *Escherichia coli* PQ37 (McCoy et al. 1981, Tokiwa et al. 1985), se encuentra en muestras obtenidas de la combustión de dos tipos de quemadores (gas y petróleo licuado) y de un calentador de keroseno, sin embargo su mutagenicidad es muy baja (Tokiwa et al. 1985).

Otro de los HAP que se halla en el ambiente es el Antraceno que no causa efectos carcinogénicos al aplicarlo a la piel de ratones (Kennaway 1924a,b, Maisin et al. 1926, 1927, Pollia 1939, Schmähl 1955, Salaman y Roe 1956, Wynder y Hoffmann 1959, Scribner 1973, Forbes et al. 1976, Scribner y Süß 1978). No induce transformaciones neoplásicas en líneas celulares de ratón, cuyo y criceto (DiPaolo et al. 1972, 1973, Evans y DiPaolo 1975, Pienta et al. 1977). En otros trabajos, cuando la administración es oral o intrapulmonar, tampoco hay indicios de carcinogenicidad (Boyland y Burrows 1935, Pollia 1941, Schmähl 1955). No hay datos acerca de su teratogenicidad. El contacto humano con este compuesto es por fumar cigarros, inhalar aire e ingerir comida o agua contaminadas (IARC 1983). Del 9-Nitroantraceno, que es un nitroderivado de este, no se tiene información con respecto a su carcinogenicidad en animales, ni tampoco de su efecto tóxico, ni en la reproducción ni en la toxicidad prenatal, o sobre su distribución, absorción, excreción y metabolismo. No se han descrito casos de estudios epidemiológicos o de carcinogenicidad en humanos (IARC 1987).

Uno de los isómeros del Antraceno es el Fenantreno que ocasiona fotosensibilidad en la piel y la LD₅₀ en ratones es de 700 mg/Kg por vía oral (Index Merck 1990).

Debido a que el hombre se encuentra expuesto a gran cantidad de contaminantes como los HAP mismos que pueden ser mutagénicos y/o carcinogénicos, es importante conocer los efectos genéticos producidos por estos mediante el empleo de sistemas de prueba que sean rápidos, eficientes y de bajo costo, con este objetivo se

trabaja principalmente con la prueba de Ames con diferentes cepas de *Salmonella typhimurium*. Sin embargo, es necesario llevar a cabo estudios de esta naturaleza también en eucariontes. Un organismo sumamente sensible que ha sido ampliamente utilizado es *Drosophila melanogaster*, que reúne características importantes como presentar un ciclo de vida corto (10 días a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y 60% de humedad) y consiste en: huevo (1 día), larva de primer estadio (1 día), larva de segundo estadio (1 día), larva de tercer estadio (2 días), prepupa (4 h) y pupa (4.5 días); en un espacio reducido se tienen muchos individuos, el medio de cultivo se elabora fácilmente y su costo no es excesivo. Además posee un complejo microsómico (P-450) que puede activar o inactivar las sustancias extrañas que le son administradas (Baars et al. 1980, Clark 1982, Hällström et al. 1984, 1987).

Se han desarrollado métodos con éste organismo que permiten examinar un amplio espectro de eventos genéticos relevantes como son: mutaciones recesivas letales (o visibles), deleciones, translocaciones, pérdida de cromosomas, inducción de letales dominantes, no disyunción y recombinación, en otras palabras, comparado con otros organismos que detectan un sólo tipo de evento genético, *Drosophila melanogaster* es más versátil para análisis de genotoxicidad.

Hasta hace algunos años, la prueba más utilizada era la de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo, por su sensibilidad y especificidad para discriminar entre mutágenos y no mutágenos, sin embargo, para su realización se requiere de más de dos

generaciones, una gran cantidad de material y personal capacitado.

En los últimos diez años, se han desarrollado nuevos sistemas de prueba que son tan sensibles como el de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo, pero que es suficiente para que se lleven a cabo en una generación de *Drosophila melanogaster*, además de que el costo para su realización es mucho menor. Estas se denominan pruebas de mutación y recombinación somáticas (SMART) usando los discos imagales de las alas y los ojos (Graf et al. 1983). Detectan actividad genotóxica de agentes químicos que inducen diferentes tipos de mutaciones además de recombinación mitótica (Vogel et al. 1980, Graf et al. 1984, Würgler y Vogel 1986, Graf et al. 1989, Van Schaik y Graf 1991).

En el ensayo SMART con las alas de *Drosophila* se usan larvas transheterocigóticas para los marcadores del cromosoma tres: *mwh* (pelos múltiples) y *flr³* (pelos en flama). Con el objeto de conocer la actividad de los promutágenos por la vía del citocromo P-450 que interviene en el metabolismo, Frölich y Würgler (1989) construyeron dos nuevas líneas que incluyen a los cromosomas uno y dos de la línea Oregón R(R) resistente al DDT (Dapkus y Merrell 1977), la cual se caracteriza por tener niveles elevados de citocromo P-450 (Hällström y Blanck 1985).

En un estudio reciente se ha demostrado que la prueba en las alas de *Drosophila*, permite el análisis de los efectos de extractos de aeropartículas provenientes de los filtros de ventilación de edificios (Graf y Singer 1989). Considerando que dichos extractos presentan actividad genotóxica, es importante conocer los efectos

de los compuestos que están incluidos en estos. A este respecto, se sabe que la prueba SMART con la cruz tradicional puede detectar la genotoxicidad de algunos HAP como son: Benzo(a)pireno (Graf y Würgler 1988), Benzo(a)antraceno (Frölich y Würgler 1990a), 9,10-Dimetil-antraceno (Graf et al. 1989) y 7,12-Dimetilbenzo(a)antraceno (Frölich y Würgler 1990a, Graf et al. 1991), sin embargo, con 2-Nitrofluoreno y 1,8-Dinitropireno los resultados han sido negativos (Graf et al. 1991).

Con los antecedentes anteriores y considerando que entre los contaminantes ambientales con mayor actividad genotóxica se encuentran los HAP y sus nitroderivados, en esta investigación se evaluó el efecto genético del Naftaleno, 1-Nitronaftaleno, 1,5-Dinitronaftaleno, Antraceno, 9-Nitroantraceno y Fenantreno mediante la prueba de mutación y recombinación en las células somáticas de las alas de *Drosophila melanogaster*, empleando para ello las cruzas estándar y de alta bioactivación.

MATERIALES Y METODOS

Las sustancias empleadas en este trabajo fueron:

Tween 80 (Sigma), Etanol (Backer), 7,12-Dimetilbenzo(a) antraceno (DMBA), N-Nitrosopirrolidina (NNP), Naftaleno, 1-Nitronaftaleno, 1,5-Dinitronaftaleno, Antraceno, 9-Nitroantraceno, Fenantreno (todos ellos de marca Fluka), Carrageninas (Liangel y Gelamix), Acido propiónico (Backer), Nipagin, Medio Instantáneo para *Drosophila* (Carolina Biological). Las fórmulas de los compuestos químicos se muestran en la Fig.1 y sus características son las siguientes:

Naftaleno

Solubilidad: insoluble en agua; es posible disolver 1 g en 13 ml de metanol o etanol, en 3.5 ml de benceno o tolueno, en 8 ml de aceite de oliva o en 2 ml de cloroformo o tetracloruro de carbono, muy soluble en éter, hidronaftalenos y en mezclas de aceites volátiles.

Uso: en la manufactura de colorantes, resinas sintéticas, celuloide, hidronaftalenos (utilizados como disolventes, en lubricantes y en combustibles para motores). Como antiséptico, antihelmíntico y vermífida en gatos (Index Merck 1990).

1-Nitronaftaleno

Solubilidad: insoluble en agua, soluble en etanol, éter dietílico, cloroformo (Windholz 1983), benceno y pireno (Weast 1985).

Uso: es un intermediario químico en la manufactura de drogas, perfumes, plaguicidas, colorantes y caucho sintético; sirve para quitar la fluorescencia de los aceites minerales (Sax y Lewis 1987); es preservador de la madera y fungicida (Kasperczak y Lutomski 1973, Dominik 1978). Nishioka et al. (1982) lo detectaron en los desechos de maquinaria pesada de diesel y Liberti et al. (1984) lo encontraron en la fase gaseosa de los desechos del diesel. En un experimento de laboratorio, se formó 18% de 1-Nitronaftaleno debido a una reacción de nitración de Naftaleno, a temperatura y presión atmosférica del ambiente (Pitts et al. 1985), también se ha visto, que cantidades significativas de 1-Nitronaftaleno resultaron de la reacción de Naftaleno con pentóxido de nitrógeno (Pitts 1987). Se ha descrito su presencia, aunque a bajas concentraciones, en el aire (Ramdahl y Urdal 1982, Ramdahl et al. 1982, Brorström-Lundén y Lindskog 1985, Wise et al. 1985, Arey et al. 1987).

1,5-Dinitronaftaleno

Solubilidad: prácticamente insoluble.

Uso: no se tienen datos.

Antraceno

Solubilidad: insoluble en agua, es posible disolver 1 g en 67 ml de alcohol absoluto, en 62 ml de benceno, en 85 ml de cloroformo, en 200 ml de éter, en 67 ml de etanol absoluto, en 70 ml de metanol, en 125 ml de tolueno o en 86 ml de tetracloruro de carbono.

Uso: el aceite de Antraceno, que lo contiene en cantidades significativas, ha sido descrito como un agente diluyente para los preservadores de la madera empleados en la industria manufacturera; este aceite también es utilizado como plaguicida, pero se canceló en 1969 su aplicación en la producción y en el almacenamiento de alimentos en EUA (Meister 1982). No hay evidencia de los niveles a los cuales el hombre puede estar expuesto sin que se genere algún tipo de dano. También se usa en semiconductores orgánicos requeridos para la investigación (Hawley 1981). Se ha identificado en el humo del cigarro (Kiryu y Kuratsune 1966, Lee et al. 1976). Es el componente mayor del contenido total de los compuestos aromáticos polinucleares y se produce en forma comercial.

9-Nitroantraceno

Solubilidad: es soluble en ácido acético glacial y anhídrido acético, insoluble en alcali acuoso y muy soluble en benceno.

Uso: se reporta como un fotosensibilizador, incrementando el espectro de sensibilidad de compuestos bis-azida (Tsunoda et al.

1973). No se tiene evidencia de su empleo comercial, solamente se produce para fines de investigación. Se ha detectado en extractos de desechos de diesel a niveles de 58 mg/Kg (Pitts et al. 1982). En otro estudio, fue "tentativamente identificado" (Xu et al. 1982). Se obtuvieron 30 ± 10 pg/m³ en muestras de febrero-abril de 1982, en un área rural en Dinamarca (Nielsen et al. 1983). También se ha localizado en muestras tomadas del aire urbano de San Luis, Missouri, EUA (Ramdahl et al. 1982).

Fenantreno (isómero del Antraceno)

Solubilidad: prácticamente insoluble en agua, soluble en disolventes orgánicos, sobre todo en hidrocarburos aromáticos, soluble en ácido acético glacial, 1 g se disuelve en 25 ml de alcohol absoluto, en 2.4 ml de tolueno o tetracloruro de carbono y en 2 ml de benceno.

Uso: no se tienen datos.

LINEAS DE *Drosophila*

Para la realización de la prueba se utilizaron tres líneas progenitoras:

1. mwh/mwh
2. flr³/TM₃,Ser
3. ORR1/ORR1; ORR2/ORR2; flr³/TM₃,Ser

Los marcadores involucrados fueron los siguientes:

mwh: "multiple wing hairs" (pelos múltiples en el ala), se encuentra en el cromosoma 3 a 0.0 unidades de mapa, fenotípicamente se distingue porque en lugar de tener un tricoma por célula, las alas del adulto del fenotipo mwh presentan de dos a cinco (Lindsley y Grell 1968).

flr³/TM3,ser: flr³ "flare" (pelos en flama), está ubicado a 39 unidades de mapa en el cromosoma 3 y se nota fenotípicamente por la ocurrencia de tricomas de forma irregular en la cutícula del adulto (García Bellido y Dapena 1974, Lindsley y Zimm 1985); al ser letal en condición homocigótica, para el mantenimiento de la línea que lo porta se requiere de la presencia de un cromosoma balanceador, éste es TM3,ser, que tiene una inversión pericéntrica en gran parte del cromosoma 3 y que además posee el marcador "Serratia" (Ser), que es dominante y permite reconocer a los individuos que llevan la inversión, ya que éstos muestran las alas con bordes discontinuos. El marcador "Serratia" es una mutación letal en condición homocigótica y debido a esto, sólo se recobran en cada generación individuos heterocigóticos tanto para flr³ como para Serratia.

ORR1 y ORR2: se refieren al primero y segundo cromosomas de la línea Oregón R(R), misma que es resistente al insecticida DDT y presenta la mayor actividad metabólica en lo referente a

reacciones que dependen del complejo microsómico P-450 (Frölich y Würgler 1989), el incremento en su capacidad metabólica se debe al gen RI, ubicado en el cromosoma 2 a 65.0 unidades de mapa. En conclusión, lo que se hizo fue la sustitución de los cromosomas 1 y 2 de la línea original flr³/TM3, Ser, por los de la línea Oregón R(R).

Medios de cultivo

Para la elaboración del medio de cultivo normal se requirió de: 1250 ml de agua, 7.6 g de Gelamix y 2.4 g de Liangel, 70 g de azúcar, 112 g de harina de maíz, 55 g de levadura de cerveza seca, 0.4 g de nipagin simple (fungicida) y 4 ml de ácido propiónico (bactericida).

Se disolvieron las gomas y el azúcar en 870 ml de agua, la harina y la levadura se mezclaron en 380 ml de agua. El agua con las gomas se llevó hasta ebullición, se movió constantemente. Una vez disueltas, se les añadió 0.4 g de nipagin y la mezcla de harina y levadura, se dejó cocer de 5 a 10 minutos, se retiró del fuego y se le agregó ácido propiónico. Se sirvieron aproximadamente hasta 2 cm del fondo de los frascos lecheros de 250 ml de capacidad, secos y limpios. No fue necesario esterilizar.

Medio A: para la colecta de los huevos se prepararon frascos con una base sólida de las carrageninas (5% p/v) que se mezclaron en frío y después se pusieron al fuego durante unos minutos para

que se disolvieran, se vació en frascos lecheros que se taparon con plástico autoadherente y se metieron al refrigerador en donde permanecieron hasta quince días. A cada frasco se le agregó una capa de 5 mm de espesor de una mezcla espesa de levadura fresca enriquecida con un poco de azúcar, se taparon con una gasa y se dejaron secar, posteriormente se introdujeron las moscas.

Medio B: para los tratamientos, en frascos homeopáticos se puso 1.5 g de medio instantáneo para *Drosophila* y se hidrató con 5 ml de la solución que estuvo a prueba.

Cruzas

Se realizaron dos cruzas de la siguiente manera:

Hembras de la línea $flr^3/TM3, Ser (2)$ con machos de la línea $mwh/mwh (1)$, mencionada con la sigla E por ser la craza estándar.

Hembras de la línea $ORR;flr^3/TM3, Ser (3)$ con machos de la línea $mwh/mwh (1)$, que se le asignaron las siglas AB por presentar el marcador RI de alta bioactivación.

Tratamientos

La exposición fue crónica por vía oral a larvas de 72 h de edad durante 48 h, de las cruzas E y AB en experimentos paralelos y se hicieron un experimento y al menos una repetición.

Se realizaron al mismo tiempo pruebas con cada uno de los compuestos y con ambas cruces, para seleccionar concentraciones no tóxicas.

Los testigos positivos fueron 7,12-Dimetilbenzo(a)antraceno (DMBA) y N-Nitrosopirrolidina (NNP), el primero a 5 mM y el segundo a 10 mM, el testigo negativo para todos los casos fue 5% Tween-80 y 5% Etanol.

Prueba SMART

En vista de que este estudio se basa en la expresión de mutaciones recesivas en células somáticas, se requiere de organismos heterocigóticos para detectar la pérdida del alelo dominante en algún momento del desarrollo y así obtener la mutación recesiva, presentándose fenotípicamente como una mancha sobre la cutícula del ala en el adulto (Graf et al. 1984).

Una de las ventajas más importantes de esta prueba es que solamente se necesita de una generación de *Drosophila melanogaster* para la obtención de resultados, también permite reconocer si los compuestos químicos actúan en el momento del tratamiento o si lo hacen posterior a él, ya que el tamaño de las manchas observadas en la cutícula de las alas depende del tiempo en el que se induce el clon, o sea que, si ocurre tempranamente la mancha es de mayor tamaño que cuando sucede a la mitad o al final del desarrollo larvario.

La formación de las manchas en las células de las alas puede deberse a mutación, recombinación o delección (Graf et al. 1983).

Es necesario obtener individuos con poca variación en la edad y así ubicar el momento en el que las soluciones provocaron algún efecto, debido a esto, la colecta de huevos de las cruces E y AB se realiza durante 8 h en frascos con el medio A. A las 72 h, se lavan los frascos con agua corriente a temperatura ambiente y se recuperan las larvas con la ayuda de una coladera muy fina de acero inoxidable (Magnusson y Ramel 1990), se ponen en frascos homeopáticos con el medio B y se dejan a 25 ± 1 C y 60% de humedad hasta que emergen los adultos que se fijan en alcohol al 70%, posteriormente las alas se montan en los portaobjetos con solución Fauré según lo describieron Graf y colaboradores (1984).

La observación de las alas se hace en un microscopio óptico con aumento de 40x. En el registro de las manchas se anota la sección del ala en la que se encuentra, la cantidad de células involucradas y el fenotipo de la misma, que puede ser: mwh, flr ó mwh/flr, clasificándose como simples a las dos primeras y dobles a las que presentan ambos. Cada mancha se considera según la cantidad de células que la forman en chicas (de 1 a 2) y grandes (de 3 ó más). La región distal del ala se subdivide en siete secciones de acuerdo con García Bellido y Merriam (1971).

Los análisis estadísticos se hacen según Frei y Würigler (1988) mediante la prueba de X^2 de proporciones con la corrección de Yates y con el programa de cómputo SMART versión P.C. de Würigler y Frei (comunicación personal), se toma en cuenta el

factor de multiplicación "m" que se refiere a la frecuencia basal para cada tipo de mancha, siendo $m = 2$ para manchas simples chicas, que aparecen en cantidad más elevada, por lo tanto se requiere de una mayor inducción del dano para duplicar la basal y siendo menos frecuentes las manchas simples grandes y las dobles, se considera una $m = 5$, lo que significa un aumento de cinco veces la frecuencia basal para que se obtenga un resultado positivo, todos los análisis se realizan con una probabilidad de error igual o menor a 0.05 ($P = 0.05$).

RESULTADOS

Para analizar el efecto de los compuestos en la prueba de mutación y recombinación somáticas, se clasificaron las manchas obtenidas en cada tratamiento como simples (chicas y grandes) y dobles. El total de todas ellas se registró en la columna de manchas totales de las tablas VII y VIII, con las cruces E y AB, respectivamente. Con todas las sustancias y en sus diversas concentraciones, las manchas simples chicas fueron las más abundantes.

De los agentes químicos que se probaron el más tóxico fue el 1-Nitronaftaleno donde la concentración más alta fue 5 mM, mientras que con el 1,5-Dinitronaftaleno se utilizaron concentraciones (100 mM).

Los testigos positivos (DMBA y NNP) produjeron la respuesta esperada en ambas cruces, pero fue más elevada en el caso de la AB.

En la cruz E, el Naftaleno mostró incremento en la frecuencia de manchas simples chicas y totales en 5 y 10 mM y para 1 y 20 mM los resultados fueron dudosos tanto para manchas simples chicas como para las totales (Fig. 2A). Sin embargo, el 1-Nitronaftaleno (Fig. 2B) para manchas simples chicas fue negativo para la más baja (1 mM), dudoso para 2 mM y positivo en 5 mM mientras que para manchas totales en las mismas concentraciones para la primera fue negativo y para las dos últimas positivo. El 1,5-Dinitronaftaleno (Fig. 3) sólo provocó efecto en las

frecuencias de manchas simples chicas y totales y fue heterogéneo ya que con 1, 10 y 100 mM fue positivo, con 5 mM negativo y para 20 y 50 mM dudoso.

Para la cruz a AB, estos tres compuestos tuvieron un comportamiento más definido ya que para manchas simples chicas y totales fueron positivos en todas las concentraciones probadas y sólo el Naftaleno indujo manchas dobles, que se originaron por eventos recombinagénicos (Figs. 4 y 5), en este caso se presentó una relación de concentración-respuesta.

El Antraceno en la cruz a E (Fig. 6A) manifestó efecto positivo en 1 y 10 mM para manchas simples chicas y totales, en simples grandes y dobles no se notó incremento significativo con respecto al testigo. En la cruz a AB (Fig. 7A) fue positivo para manchas simples chicas en 1, 5, 10 y 20 mM y débil positivo con 50 mM, sin embargo, cuando se sumaron todos los eventos y se analizó la frecuencia de manchas totales el resultado fue débil positivo en 1, 10 y 20 mM, positivo para 5 mM y negativo para 50 mM.

Con la cruz a E, el 9-Nitroantraceno (Fig. 6B) incrementó las manchas simples chicas y totales para todas las concentraciones y con la cruz a AB (Fig. 7B) los resultados con las dos concentraciones más altas (20 y 50 mM) fueron dudosos, positivos con 1 y 10 mM y negativos con 5 mM.

En la cruz a E (Fig. 8), el Fenantreno no indujo ningún tipo de mancha mientras que en la AB (Fig. 9) para manchas simples chicas y totales fue débil positivo para 1 mM y para 2.5, 5 y 10 mM fue positivo.

DISCUSION

Drosophila melanogaster aparentemente no se consideraba como un organismo sensible a la acción genotóxica de los HAP. (Lee et al. 1983), hasta que Frölich y Würigler (1989, 1990a) construyeron dos nuevas líneas: ORR;mwh y ORR;flr³ en las que se incrementó la capacidad enzimática y al analizar con ellas los promutágenos Dietilnitrosamina (DEN), Benzo(a)pireno (BaP), Benzo(a)antraceno (BaA), DMBA, Aflatoxina B₁, NNP y Uretano, encontraron que aumentó significativamente la sensibilidad (Frölich 1989, Frölich y Würigler 1989, 1990a,b), sin embargo surgieron varias desventajas: la producción de huevos fue baja cuando se utilizó la línea ORR;mwh como hembras progenitoras, los resultados de la repetición de los experimentos no fueron consistentes y como el patrón de los pelos del ala se alteró, fue difícil su lectura, por lo cual, Graf et al. (1991) diseñaron la cruce de alta bioactivación (AB) con hembras ORR;flr³ y machos mwh que no manifestó los inconvenientes anteriores y que por el contrario, elevó la cantidad de huevos y no afectó la capacidad metabólica. Estos autores demostraron así que: DEN, DMBA, NNP y Uretano aumentaron las frecuencias obtenidas en la cruce E y sus resultados concordaron con los datos publicados acerca de que DMBA fue detectado más fácilmente que otros HAP (Vogel et al. 1983, Zijlstra y Vogel 1984, Kñgi 1987).

La respuesta positiva de los promutágenos DMBA y NNP en el presente trabajo coincidió con los descritos por Zijlstra et al. (1981), Zijlstra y Vogel (1984), Frölich y Würgler (1990a) y Graf et al. (1991).

El Naftaleno y sus nitroderivados evaluados en la cruz a AB tuvieron una respuesta positiva para todas las concentraciones utilizadas lo que implicó que estos compuestos al ser metabolizados son más activos y su acción es indirecta, en el caso de los compuestos nitrados, 1-Nitronaftaleno fue el más tóxico, en la cruz a E para 2 y 5 mM fue positivo y al comparar éstas frecuencias con las obtenidas en la cruz a AB, se observó que fueron más elevadas en la segunda y su comportamiento fue el de un mutágeno indirecto, por otro lado, 1,5-Dinitronaftaleno resultó ser el menos tóxico, en la cruz a E sólo fue positivo en tres concentraciones (1, 10 y 100 mM) en tanto que con la AB lo fue para todas, lo cual implicó que fue un promutágeno.

En otros estudios, al Naftaleno se le describió como clastogénico en la prueba de micronúcleos (Harper et al. 1984) y como no mutagénico en *Salmonella* y *Escherichia* sin activación metabólica. (Tabla I). 1-Nitronaftaleno al ser evaluado en diversos microorganismos presentó los siguientes resultados (Tabla II), en *Salmonella* con activación fueron positivos y sin activación negativos, en *Escherichia* sin activación fue negativo y para la prueba de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo en *Drosophila melanogaster* fue también negativo aplicado tanto por inyección como por alimentación (Valencia et al. 1985), lo que no

concordó con los resultados obtenidos en el presente estudio, especialmente en la cruz a AB, ya que en todas las concentraciones aplicadas, la respuesta fue positiva, en tanto que 1,5-Dinitronaftaleno tuvo un efecto positivo en 1, 5, 10, 20, 50 y 100 mM en dicha cruz a lo que coincidió con lo descrito por McCoy *et al.* (1981) y Tokiwa *et al.* (1985) en *Salmonella* y *Escherichia* con activación metabólica (Tabla III).

En la cruz a E, el Antraceno fue positivo para 1 y 10 mM y negativo para 5, 20 y 50 mM y para la AB, positivo en 5 mM, débil en 1, 10 y 20 mM y negativo para la más alta (50 mM), lo que indicó su acción indirecta, sin embargo, su nitroderivado mostró resultados inconsistentes, en la cruz a E fue positivo en todas las concentraciones y en la AB sólo para 1 y 10 mM, negativo para 5 mM y dudoso para 20 y 50 mM, esto mostró que es un mutágeno directo que al ser evaluado mediante una cruz a (AB) con mayores niveles enzimáticos que la estándar posiblemente se llegó a la saturación del metabolismo. En la tabla IV se muestran las diferentes pruebas que se hicieron con el Antraceno tanto en procariontes como en eucariontes y en todos los casos no fue mutagénico, por lo tanto, estos datos no estuvieron de acuerdo con los presentados en las tablas VII y VIII, ya que su comportamiento fue de mutágeno indirecto y el 9-Nitroantraceno produjo mutaciones en *Salmonella* con y sin la fracción S9 de hígado de rata pero no indujo la respuesta SOS en *Escherichia* sin activación metabólica (Tabla V), lo cual explicó la respuesta inconsistente para este trabajo en ambas cruces.

El Fenantreno para la prueba SMART en la cruz a E en todas las concentraciones fue negativo (Fig. 8) y en la AB positivo (Fig. 9), o sea que, al incrementar la capacidad enzimática del citocromo P-450, la respuesta negativa de la cruz a tradicional se convirtió en positiva con las mismas condiciones pero con una cruz a más sensible, lo que concordó con lo encontrado en microorganismos (Tabla VI) en donde fue mutagénico sólo cuando se le adicionó la fracción S9, lo que indicó que al ser acelerado el metabolismo, éste se activó, notándose claramente que la detección fue más efectiva implicando que se trata de un mutágeno indirecto, este hallazgo es sumamente importante porque este compuesto y sus productos (nitrofenantrenos), han sido identificados en los extractos de aeropartículas (Helming y Arey 1991, Helming *et al.* 1991), y de acuerdo con su relativa abundancia en la atmósfera, puede ser uno de los responsables de la mutagenicidad de los contaminantes ambientales (Arey *et al.* 1992)

CONCLUSIONES

Los efectos producidos por los HAP y algunos de sus nitroderivados, quedaron de manifiesto al ser evaluados con la prueba SMART empleando las alas de *Drosophila melanogaster*, para lo cual, se utilizaron dos cruza, una con el metabolismo basal (E) y otra con el metabolismo incrementado (AB), los resultados de ambas se compararon entre si, encontrándose que el Naftaleno y dos de sus nitroderivados fueron mutágenos indirectos siempre que se aumentó el metabolismo basal y esto concordó con lo descrito en las tablas I, II y III, ya que en diferentes organismos con activación metabólica fueron mutagénicos y sin activación metabólica no mutagénicos.

Al Antraceno se le había descrito como no mutagénico (Tabla IV), sin embargo, en el presente trabajo mostró ser promutágeno, lo cual indicó que empleando la cruza de alta bioactivación de *Drosophila melanogaster* fue posible detectar el efecto genotóxico de dicho compuesto que no había sido posible evidenciar con otros sistemas de prueba. De su nitroderivado, se obtuvo respuesta positiva con la cruza E mientras que con la AB el efecto no fue tan claro, lo que sugirió que de alguna manera se comportó como un agente de acción directa lo que estuvo de acuerdo con los datos descritos en la tabla V, en donde se mostró que con y sin activación metabólica fue mutagénico.

Para el Fenantreno, se conocía su efecto mutagénico en microorganismos con la adición de la fracción S9 de hígado de rata, en las células somáticas de las alas de *Drosophila* se obtuvo respuesta negativa en la cruza E, por el contrario, con la cruza AB, al aumentar los niveles enzimáticos, fue posible obtener una mayor sensibilidad del organismo hacia dicho mutágeno, esto demostró su acción indirecta.

Los resultados analizados en este trabajo permiten concluir finalmente que las células somáticas de las alas de *Drosophila melanogaster* evidenciaron la capacidad de las cruza E y AB para la detección del efecto genotóxico de algunos HAP y sus nitroderivados.

REFERENCIAS

- Abe S. y Sasaki M. (1977). Studies on chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges induced by chemicals. Proc. Jpn. Acad. 53, 46-49.
- Amacher D.E. y Turner G.N. (1980). Promutagen activation by rodent-liver postmitochondrial fractions in the L5178Y/TK cell mutation assay. Mutat. Res. 74, 485-501.
- Amacher D.E., Paillet S.C., Turner G.N., Ray V.A. y Salsburg D.S. (1980). Point mutations at the thymidine kinase locus in L5178Y mouse lymphoma cells. II. Test validation and interpretation. Mutat. Res. 72, 447-474.
- Arey J., Zielinska B., Atkinson R. y Winer A.M. (1987). Polycyclic aromatic hydrocarbon and nitroarene concentrations in ambient air during a wintertime high-NO_x episode in the Los Angeles basin. Atmos. Environ. 21, 1437-1444.
- Arey J., Harger W. P., Helmig D. y Atkinson R. (1992). Bioassay-directed fractionation of mutagenic PAH atmospheric photooxidation products and ambient particulate extracts. Mutat. Res. 281, 67-76.
- Ashby J. y Tennant W.R. (1991). Definitive relationships among chemical structure, carcinogenicity and mutagenicity for 301 chemicals tested by the U.S. NTP. Mutat. Res. 257, 229-306.
- Baars A.J. (1980). Biotransformation of xenobiotics in *Drosophila melanogaster* and its relevance for mutagenicity testing. Drug Metab. Rev. 11, 191-221.

- Barfknecht T.R., Andon B.M., Thilly W.G. y Hites R.A. (1981). Soot and mutation in bacteria and human cells. En: Chemical Analysis and Biological Fate: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (M. Cooke y A.J. Dennis, Eds.), 5th Int. Symposium. Columbus, OH, Battelle Press, EUA, pp. 231-242.
- Bartsch H., Malaveille C., Camus A.M., Martel-Planche G., Brun G., Hautefeuille A., Sabadie N. y Barbin A. (1980). Validation and comparative studies on 180 chemicals with *Salmonella typhimurium* strains and V79 Chinese hamster cells in the presence of various metabolizing systems. *Mutat. Res.* 76, 1-50.
- Benkendorf C.A.R. (1978). Metabolic pathways of the N-substituted naphthalenes: their relationship to mutagenicity and carcinogenicity. Ph. D. Thesis, University of Michigan.
- Blumer J.L., Friedman A., Meyer L.W., Fairchild E., Webster L.T. y Speck W.T. (1980). Relative importance of bacterial and mammalian nitroreductases for niridazole mutagenesis. *Cancer Res.* 40, 4599-4605.
- Boyes B.G., Rogers C.G. y Stapley R. (1991). Genotoxicity of 1-nitronaphthalene in Chinese hamster V79 cells. *Mutat. Res.* 259, 111-121.
- Boyland E. y Burrows H. (1935). The experimental production of sarcoma in rats and mice by a colloidal aqueous solution of 1:2:5:6-dibenzanthracene. *J. Pathol.* 41, 231-238.
- Brams A., Buchet J.P., Crutzen-Fayt M.C., de Meester C., Lauwers R. y Léonard A. (1987). A comparative study with 40 chemicals

- of the efficiency of the *Salmonella* assay and the SOS chromotest (Kit procedure). *Toxicol. Lett.* **38**, 123-133.
- Brorström-Lundén E. y Lindskog A. (1985). Characterization of organic compounds on airborne particles. *Environ. Int.* **11**, 183-188.
- Brune H., Deutsch-Wentzel R., Dobbertin S., Grimmer G., Habs M., Jacob J., Misfeld J., Mohr U., Obersdoerster G., Pott F., Schmaehl D., Schneider P. y Steinhof D. (1979). Luftqualitätskriterien für ausgewählte polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe. Erich Schmidt, Berlin.
- Carey P.M. (1986). Air toxics emissions from motor vehicles. EPA/AA/TSS/PA-8615, Environmental Protection Agency. Ann Arbor, MI.
- Chin J.B., Scheinin D.M.K. y Rauth A.M. (1978). Screening for the mutagenicity of nitro-group containing hypoxic cell radiosensitizers using *Salmonella typhimurium* strains TA100 y TA98. *Mutat. Res.* **58**, 1-10.
- Chiu C.W., Lee L.H., Wang C.Y. y Bryan G.T. (1978). Mutagenicity of some commercially available nitro compounds for *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.* **58**, 11-22.
- Clark A.M. (1982). The use of larval stages of *Drosophila* in screening for some naturally occurring mutagens. *Mutat. Res.* **2**, 89-97.
- Clayson D.B. y Garner R.C. (1976). Carcinogenic aromatic amines. En: Chemical Carcinogens (C.E. Searle, Ed.), American Chemical Society Monograph 173, Washington, DC, pp. 366-461.

- Cohen S.M., Ertuck E., von Esch A.M., Crovetti A.J. y Bryan G.T. (1973). Carcinogenicity of 5-nitrofurans, 5-nitroimidazoles, 4-nitrobenzenes, and related compounds. J. Natl. Cancer Inst. 51, 403-417.
- Dapkus J. y Merrell D.J. (1977). Chromosomal analysis of DDT-resistance in a long-term selected population of *Drosophila melanogaster*. Genetics 87, 685-697.
- de Serres F.J. y Ashby J. (Eds.). (1981). Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the International Collaborative Program. Progress in Mutat. Res. Vol. 1, Amsterdam, Elsevier/North Holland.
- Deichmann W.B., MacDonald W.M., Coplan M.M., Woods F.M. y Anderson W.A. (1958). Para-nitro-biphenyl, a new bladder carcinogen in the dog. Ind. Med. Surg. 27, 634-637.
- DiPaolo J.A., Takano K. y Popescu N.C. (1972). Quantitation of chemically induced neoplastic transformation of BALB/3T3 cloned cell lines. Cancer Res. 32, 2686-2695.
- DiPaolo J.A., Nelson R.L., Donovan P.J. y Evans C.H. (1973). Host-mediated in vivo-in vitro assay for chemical carcinogenesis. Arch. Pathol. 92, 380-385.
- Dominik J. (1978). Studies of the stability of insecticidal activity of some oily wood preservations 15 years after their application (Pol.). Zesz. Probl. Postepow Nauk Roln. 209, 135-141.
- Dunkel V.C., Zeiger E., Brusick D., McCoy E., McGregor D., Mortelmans K., Rosenkranz H.S. y Simmon V.F. (1985).

- Reproducibility of microbial mutagenicity assays: II. Testing of carcinogens and noncarcinogens in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. Environ. Mutagen. 7, suppl. 5, 1-248.
- Edmisten G.E. y Bantle J.A. (1982). Use of *Xenopus laevis* larvae in 96-hour, flow-through toxicity tests with naphthalene. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 29, 392-399.
- El-Bayoumy K., Lavoie E.J., Hecht S.S., Fow E.A. y Hoffmann D. (1981). The influence of methyl substitution on the mutagenicity of nitronaphthalenes and nitrobiphenyls. Mutat. Res. 81, 143-153.
- El-Bayoumy K. y Hecht S.S. (1982). Comparative metabolism in vitro of 5-nitroacenaphthene and 1-nitronaphthalene. En: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (W.M. Cooke, A.J. Dennis y G.L. Fisher, Eds.), Sixth International Symposium, Physical and Biological Chemistry, Columbus, OH, Battelle, EUA, pp. 263-273.
- Evans C.H. y DiPaolo J.A. (1975). Neoplastic transformation of guinea pig fetal cells in culture induced by chemical carcinogens. Cancer Res. 35, 1035-1044.
- Forbes P.D., Davies R.E. y Urbach F. (1976). Phototoxicity and photocarcinogenesis: comparative effects of anthracene and 8-methoxypsoralene in the skin of mice. Food Cosmet. Toxicol. 14, 303-306.

- Frei H.J. y Würgler F.E. (1988). Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive result. *Mutat. Res.* 203, 297-308.
- Frölich A. (1989). Genotoxizitätsprüfung mit *Drosophila melanogaster*: Neue Testerstämme mit erhöhter metabolischer Kapazität. Thesis No. 8850, ETH-Zürich, Suiza, 152 pp.
- Frölich A. y Würgler F.E. (1989). New tester strains with improved high bioactivation capacity for the *Drosophila* wing spot test. *Mutat. Res.* 216, 179-187.
- Frölich A. y Würgler F.E. (1990a). *Drosophila* wing spot test: improved detectability of genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutat. Res.* 234, 71-80.
- Frölich A. y Würgler F.E. (1990b). Genotoxicity of ethyl carbamate in the *Drosophila* wing spot test: dependence on genotype-controlled metabolic capacity. *Mutat. Res.* 244, 201-208.
- García-Bellido A. y Merriam J.R. (1971). Parameters of the wing imaginal disc development of *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* 24, 61-87.
- García-Bellido A. y Dapena J. (1974). Induction, detection and characterization of cell differentiation mutants in *Drosophila*. *Mol. Gen. Genet.* 128, 117-130.
- Graf U., Juon H., Katz A.J., Frei H.J. y Würgler F.E. (1983). A pilot study on a new *Drosophila* spot test. *Mutat. Res.* 120, 233-239.

- Graf U., Würgler F.E., Katz A.J., Frei H., Juon H., Hall C.B. y Kale P.G. (1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. Environ. Mutagen. 6, 153-188.
- Graf U. y Würgler F.E. (1988). The sex-linked recessive lethal assay and somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. En: Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens (J. Ashby et al., Eds.), International Programme on Chemical Safety's Collaborative Study on *In vivo* assays, vol. 2, Cambridge University Press/WHO, Cambridge, UK, pp. 2.301-2.309.
- Graf U. y Singer D. (1989). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster* (wing spot test): effects of extracts of airborne particulate matter from fire-exposed and non-fire-exposed building ventilation filters. Chemosphere 19, 1094-1097.
- Graf U., Frei H., KÄgi A., Katz A.J. y Würgler F.E. (1989). Thirty compounds tested in the *Drosophila* wing spot test. Mutat. Res. 222, 359-373.
- Graf U., van Schaik N. y Pacella R. (1991). Improved "High Bioactivation" cross for the SMART wing assay. D.I.S. 70, 247-248.
- Greibokk T., Löfroth G., Nilsson L. y Toftgard R. (1983). Nitroarenes: mutagenicity in the Ames *Salmonella*/microsome assay and affinity to the TCDD- receptor protein. En: Fifth CIIT Conference on Toxicology, Toxicity of Nitroaromatic

Compounds (D.E. Rickert, Ed.), Nueva York, Hemisphere Publ. Corp.

Grimmer G. (1983). Chemistry. En: Environmental Carcinogens: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (G. Grimmer, Ed.), Boca Raton, Florida, pp. 27-60.

Gruger E.H.Jr., Schnell J.V., Fraser P.S., Brown D.W. y Malins D.C. (1981). Metabolism of 2,6-dimethylnaphthalene in starry flounder (*Platichthys stellatus*) exposed to naphthalene and p-cresol. *Aquat. Toxicol.* 1, 37-48.

Hällström I., Blanck A. y Atuma S. (1984). Genetic variation in cytochrome P-450 and xenobiotic metabolism in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Pharmacol.* 33, 13-20.

Hällström I. y Blanck A. (1985). Genetic regulation of the cytochrome P-450 system in *Drosophila melanogaster*. I. Chromosomal determination of some cytochrome P-450 dependent reactions. *Chem. Biol. Interact.* 56, 157-171.

Hällström I. (1987). Genetic variation in cytochrome P-450 dependent demethylation in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Pharmacol.* 36, 2279-2282.

Harper B.L., Ramanujam V.M.S., Gad-El-Karim M.M. y Legator M.S. (1984). The influence of simple aromatics on benzene clastogenicity. *Mutat. Res.* 128, 105-114.

Haugen A., Becher G., Benestad C., Vahakangas K., Trivers G.E., Newman M.J. y Harris C.C. (1988). Biomonitoring of individuals exposed to high levels of PAH in the work environment. En: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (M.C.

- Cooke y A.J. Dennis, Eds.), Columbus, OH, Battelle, EUA, pp. 377-387.
- Hawley G.G., Ed. (1981). The Condensed Chemical Dictionary. 10th ed., Van Nostrand Reinhold, Nueva York, p.75.
- Haworth S., Lawler L., Mortelsman K., Speck W. y Zeiger E. (1983). *Salmonella* mutagenicity test results for 250 chemicals. Environ. Mutagen. 1, 3-142.
- Helming D. y Arey J. (1991). Analytical chemistry of four nitrodibenzopyranone isomers for ambient air analysis. Mutat. Res. 257, 211-228.
- Helming D., Arey J., Harger W.P., Atkinson R. y López-Cancio J. (1991). Formation of mutagenic nitrobenzopyranones and their occurrence in ambient air. Mutat. Res. 259, 101-110.
- Henderson T.R., Clark C.R., Hanson R.L. y Royer R.E. (1980). Fractionation of environmental organic extracts with dimethylsulfoxide. Applications to diesel exhaust particulates. Proceedings of the 28th Annual Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, held May 25-30, 1980, Nueva York, American Society for Mass Spectrometry, pp. 243-244.
- Henderson T.R., Li A.P., Royer R.E. y Clark C.R. (1981). Increased cytotoxicity and mutagenicity of diesel fuel after reaction with NO₂. Environ. Mutagen. 3, 211-220.
- Ho C.H., Clark B.R., Guerin M.R., Barkenbus B.D., Roa T.K. y Epler J.L. (1981). Analytical and biological analyses of test materials from the synthetic fuel technologies. IV. Studies

of chemical structure-mutagenic activity relationships of aromatic nitrogen compounds relevant to synfuels. *Mutat. Res.* **85**, 335-345.

IARC (1983). IARC Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 32, Polynuclear Aromatic Compounds, Parte 1, Chemical, Environmental and Experimental Data, Lyon.

IARC (1987). IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Supplement 7, Overall Evaluations of Carcinogenicity: an updating of IARC Monographs volumens 1 - 42, Lyon, pp. 260-261.

Index Merck (1990). Encyclopedia of chemical and drugs. Merck and Co., Inc. Rahway, NJ, EUA, 11 ed., 1606 p.

Johnson D.E. y Cornish H.H. (1978). Metabolic conversion of 1-and 2-nitronaphthalene to 1-and 2-naphthylamine in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **46**, 549-553.

Johnson D.E., Riley M.G.I. y Cornish H.H. (1984). Acute target organ toxicity of 1-nitronaphthalene in the rat. *J. Appl. Toxicol.* **4**, 253-257.

Kaden D.A., Hites R.A. y Thilly W.G. (1979). Mutagenicity of soot and associated polycyclic aromatic hydrocarbons to *Salmonella typhimurium*. *Cancer Res.* **39**, 4152-4159.

Kägi A.R. (1987). Genotoxizitätsprüfung mit *Drosophila melanogaster*: Vergleich von drei Testsystemen mit somatischen Zellen. Thesis 8280, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, 127 pp.

- Kasperczak B. y Lutomski K. (1973). Fungicidal properties of by-products formed during the production of dinitrophenol and alpha-nitronaphthalene. Roczn. Akad. Roln. Poznaniu 62, 87-100.
- Kennaway E.L. (1924a). On cancer-producing tars and tar-fractions. J. Ind. Hyg. 5, 462-488.
- Kennaway E.L. (1924b). On cancer-producing factor in tar. Br. Med. J. I. 6, 564-567.
- Kiryu S. y Kuratsune M. (1966). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the cigarette tar produced by human smoking. Gann 57, 317-322.
- Knaap A.G.A.C., Goze C. y Simons J.W.I.M. (1981). Mutagenic activity of seven coded samples in V79 Chinese hamster cells. En: Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens Report of the International Collaborative Program. Progress in Mutation Research (F.J. de Serres y J. Ashby, Eds.), Vol. 1, Amsterdam, Elsevier/North Holland, pp. 608-613.
- LaVoie E., Bedenko V., Hirota N., Hecht S.S. y Hoffmann D. (1979). A comparison of the mutagenicity, tumor-initiating activity and complete carcinogenicity of polynuclear aromatic hydrocarbons. En: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (P.W. Jones y P. Leber, Eds.), Ann Arbor, MI, Ann Arbor Science Publishers, EUA, pp. 705-721.
- Lee M.L., Novotny M. y Bartle K.D. (1976). Gas chromatography/mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectrometric studies of carcinogenic polynuclear aromatic hydrocarbons in

- tobacco and marijuana smoke condensates. Anal. Chem. 48, 405-416.
- Lee W.R., Abrahamson S., Valencia R., von Halle E.S., Würgler F.E. y Zimmering S. (1983). The sex-linked recessive lethal test for mutagenesis in *Drosophila melanogaster*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat. Res. 123, 183-279.
- Lewis D.F.V., Ioannides C. y Parke D.V. (1990). A prospective toxicity evaluation (COMPACT) on 40 chemicals currently being tested by the National Toxicology Program Mutagenesis 5, 433-435.
- Liberti A., Ciccioli P., Cecinato A., Brancaleoni E. y DiPaolo C. (1984). Determination of nitrated-polyaromatic hydrocarbons (nitro-PAHs) in environmental samples by high resolution chromatographic techniques. J. High Resolut. Chromatogr. Commun. 7, 389-397.
- Lindsley D.L. y Grell E.H. (1968). Genetic variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Institution, Publ. No 627, Washington, DC.
- Lindsley D.L. y Zimm G. (1985). The genome of *Drosophila melanogaster*. Part I: genes A-K. D.I.S. 62, 1-277.
- Löfroth G., Toftgard R., Nilsson L., Agurell E. y Gustafsson J.A. (1984). Short-term bioassays of nitro derivatives of benzo(a)pyrene and perylene. Carcinogenesis 5, 925-930.
- Magnusson J. y Ramel C. (1990). Inhibitor of poly (ADPribose) transferase potentiates the recombinogenic but not the

- mutagenic action of alkylating agents in somatic cells in vivo in *Drosophila melanogaster*. *Mutagenesis* 5, 511-514.
- Maisin J., Rome M. y Jacqmin L. (1926). Method for obtaining non-carcinogenic tars. *C.R. Soc. Biol.* 94, 767-769.
- Maisin J., Desmedt P. y Jacqmin L. (1927). Carcinogenic action of carbazole. *C.R. Soc. Biol.* 96, 1056-1058.
- Martin C.N., McDermid A.C. y Garner R.C. (1978). Testing of known carcinogens and noncarcinogens for their ability to induce unscheduled DNA synthesis in HeLa cells. *Cancer Res.* 38, 2621-2627.
- Martin C.N. y McDermid A.C. (1981). Testing of 42 coded compounds for their ability to induced unscheduled DNA repair synthesis in HeLa cells. En: Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens. Report of the International Collaborative Program. (F.J.de Serres y J. Ashby, Eds.), *Progress in Mutation Research Vol. 1*, Amsterdam, Elsevier/North Holland, pp. 533-537.
- Martin del Campo C.R. y Gomez-Arroyo S. (1984). Efectos citogenéticos del naftaleno. *Universidad y Ciencia* 1, 35-43.
- Matsuda A. (1981). Studies on the mutagenicity of nitro-aromatic compounds in the environment. *Gifu Daigaku Igakubu Kiyu* 29, 278-296.
- McCann J., Choi E., Yamasaki E. y Ames B.N. (1975). Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: assay of 300 chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 72, 5135-5139.

- McCarroll N.E., Keech B.H. y Piper C.E. (1981). A micro-suspension adaptation of the *Bacillus subtilis* rec assay. Environ. Mutagen. 2, 607-616.
- McCoy E.C., Rosenkranz E.J., Petrullo L.A., Rosenkranz H.S. y Mermelstein R. (1981). Structural basis of the mutagenicity in bacteria of nitrated naphthalene and derivatives. Environ. Mutagen. 3, 499-511.
- Meister R.T. (Ed.) (1982). Farm Chemical Handbook. Willoughby, OH, Meister Publishing Co., EUA, pp. C18, C279.
- Mersch-Sundermann V., Mochayed S. y Kevekordes S. (1992). Genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Escherichia coli* PQ37. Mutat. Res. 278, 1-9.
- Miller J.A., Sandin R.B., Miller E.C. y Rusch H.P. (1955). The carcinogenicity of compounds related to 2-acetylaminofluorene, II. Variations in the bridges and the 2-substituent. Cancer Res. 15, 188-195.
- Mortelmans K., Haworth S., Lawlor T., Speck W., Tainer B. y Zeiger E. (1986). *Salmonella* mutagenicity tests: II. Results from the testing of 270 chemicals. Environ. Mutagen. 9, Suppl. 7, 1-119.
- National Cancer Institute (1978). Bioassay of 1-nitronaphthalene for possible carcinogenicity (NCI-CG-TR-64) (DHDW Publication No. NIH 78-1314), Bethesda, MD, USA Department of Health, Education and Welfare.
- Nielsen T., Seitz B., Hansen A.M., Keiding K. y Westerberg B. (1983). The presence of nitro-PAH in samples of airborne

particulate matter. En: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons 7th International Symposium. Columbus, OH, Battelle Press, EUA.

Nishioka M.G., Petersen B.A. y Lewtas J. (1982). Comparison of nitro-aromatic content and direct-acting mutagenicity of diesel emissions. En: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Sixth International Symposium, Physical and Biological Chemistry (M. Cooke, A.J. Dennis y G.L. Fisher, Eds.), Columbus, OH, Battelle Press, EUA, pp. 603-613.

Pederson T.C. y Siak J.S. (1981). The role of nitroaromatic compounds in the direct-acting mutagenicity of diesel particle extracts. *J. Appl. Toxicol.* 1, 54-60.

Pienta R.J., Poiley J.A. y Leberz III W.B. (1977). Morphological transformation of early passage golden syrian hamster embryo cells derived from cryopreserved primary cultures as a reliable in vitro bioassay for identifying diverse carcinogens. *Int. J. Cancer* 19, 642-655.

Pitts J.N. Jr., van Cauwenberge K.A., Grosjean D., Schmid J.T., Fitz D.R., Belser W.L., Knudson G.B. y Hyndes P.M. (1978). Atmospheric reactions of polycyclic aromatic hydrocarbons: facile formation of mutagenic nitro derivatives. *Science* 202, 515-519.

Pitts J.N. Jr., Lokensgard D.M., Harger W., Fisher T., Mejia V., Schuler J.J., Scorziell G.M. y Katzenstein Y.A. (1982). Mutagens in diesel exhaust particulate. Identification and direct activities of 6-nitrobenzo(a)pyrene, 9-

- nitroanthracene, 1-nitropyrene and 5H-phenanthro(4,5-bcd)pyren-5-one. *Mutat. Res.* 103, 241-249.
- Pitts J.N. Jr., Atkinson R., Sweetman J.A. y Zielinska B. (1985). The gas-phase reactions of naphthalene with N_2O_5 to form nitronaphthalenes. *Atmos. Environ.* 19, 701-705.
- Pitts J.N. Jr. (1987). Nitration of gaseous polycyclic aromatic hydrocarbons in simulated and ambient urban atmospheres: a source of mutagenic nitroarenes. *Atmos. Environ.* 21, 2531-2547.
- Poirier L.A. y Weisburger J.H. (1974). Enzymic reduction of carcinogenic aromatic nitro compounds by rat and mouse liver fractions. *Biochem. Pharmacol.* 23, 661-669.
- Pollia J. A. (1939). Investigations on the possible carcinogenic effect of anthracene and chrysene and some of their compounds. I. The effect of painting on the skin of mice. *J. Ind. Hyg. Toxicol.* 21, 219-220.
- Pollia J.A. (1941). Investigations on the possible carcinogenic effect of anthracene and chrysene and some of their compounds. II. The effect of subcutaneous injection in rats. *J. Ind. Hyg. Toxicol.* 23, 449-451.
- Probst G.S., McMahon R.E., Hill L.E., Thompson C.Z., Epp J.K. y Neal S.B. (1981). Chemically-induced unscheduled DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures: a comparison with bacterial mutagenicity using 218 compounds. *Environ. Mutagen.* 3, 11-32.

- Ramdahl T. y Urdal K. (1982). Determination of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons by fused silica capillary gas chromatography/negative ion chemical ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 54, 2256-2260.
- Ramdahl T., Becher G. y Bjorseth A. (1982). Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons in urban air particles. *Environ. Sci. Technol.* 16, 861-865.
- Rasmussen R.E. (1986). Metabolism and macromolecular binding of 1-nitronaphthalene in the mouse. *Toxicology* 41, 233-247.
- Rosenkranz H.S y Speck W.T. (1975). Mutagenicity of metronidazole: activation by mammalian liver enzymes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 66, 520-525.
- Rosenkranz H.S. y Poirier L.A. (1979). Evaluation of the mutagenicity and DNA-modifying activity of carcinogens and noncarcinogens in microbial systems. *J. Natl. Cancer Inst.* 62, 873-892.
- Rosenkranz H.S., McCoy E.C., Sanders D.R., Butler M., Kiriazides D.K. y Mermelstein R. (1980). Nitropyrenes: isolation, identification and reduction of mutagenic impurities in carbon black and toners. *Science* 209, 1039-1043.
- Rosenkranz H.S. y Mermelstein R. (1985). The genotoxicity, metabolism and carcinogenicity of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Environ. Sci. Health* C3, 221-272.
- Rosenkranz H.S., McCoy E.C., Frierson M. y Klopman G. (1985). The role of DNA sequence and structure of the electrophile on the mutagenicity of nitroarenes and arylamine derivatives.

- Environ. Mutagen. 7, 645-653.
- Roszinsky-Köcher G., Basler A. y Röhrborn G. (1979). Mutagenicity of polycyclic hydrocarbons. V. Induction of sister-chromatid exchanges in vivo. Mutat. Res. 66, 65-67.
- Sakai M., Daisuke Y. y Mizusaki S. (1985). Mutagenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons on *Salmonella typhimurium* TA97. Mutat. Res. 156, 61-67.
- Salaman M.H. y Roe F.J.C. (1956). Further tests for tumour-initiating activity: N,N-Di-(2-chloroethyl)-p-aminophenylbutyric acid (CB1348) as an initiator of skin tumour formation in the mouse. Br. J. Cancer 10, 363-378.
- Salamone M.F., Heddle J.A. y Katz M. (1979). The mutagenic activity of thirty polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and oxides in urban airborne particulates. Environ. Int. 2, 37-43.
- Salamone M.F. (1981). Toxicity of 41 carcinogens and noncarcinogenic analogs. Prog. Mutat. Res. 1, 682-685.
- Sax N.I. y Lewis R.L. (Eds.) (1987). Hawley's Condensed Chemical Dictionary 11th ed., Nueva York, Van Nostrand Reinhold, p. 735.
- Schmähl D. (1955). Examination of the carcinogenic action of naphthalene and anthracene in rats. Z. Krebsforsch 60, 697-710.
- Scribner J.D. (1973). Brief communication: tumour initiation by apparently noncarcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. J. Natl. Cancer Inst. 50, 1717-1719.

Scribner J.D. y Süss R. (1978). Tumour initiation and promotion. Int. Rev. Exp. Pathol. 18, 137-198.

Scribner J.D., Fisk S.R. y Scribner N.K. (1979). Mechanisms of action of carcinogenic aromatic amines: an investigation using mutagenesis in bacteria. Chem. Biol. Interact. 26, 11-25.

Simmon V.F. (1979a). In vitro mutagenicity assays of chemical carcinogens and related compounds with *Salmonella typhimurium*. J. Natl. Cancer Inst. 62, 893-899.

Simmon V.F. (1979b). In vitro assays for recombinogenic activity of chemical carcinogens and related compounds with *Saccharomyces cerevisiae* D3. J. Natl. Cancer Inst. 62, 901-909.

Takahashi K., Huang G.F., Araki M. y Kawazoe Y. (1979). Carcinogenicity and mutagenicity of 4-nitropyridine-1-oxide derivatives. Gann 70, 799-806.

Tokiwa H., Nakagawa R. y Ohnishi Y. (1981). Mutagenic assay of aromatic nitro compounds with *Salmonella typhimurium*. Mutat. Res. 91, 321-325.

Tokiwa H., Nakagawa R. y Horikawa K. (1985). Mutagenic/ carcinogenic agents in indoor pollutants; the dinitropyrenes generated by kerosene heaters and fuel gas and liquefied petroleum gas burners. Mutat. Res. 157, 39-47.

Tong C., Laspia M.F., Telang S. y Williams G.M. (1981a). The use of adult rat liver cultures in the detection of the genotoxicity of various polycyclic aromatic hydrocarbons. Environ. Mutagen. 3, 477-487.

- Tong C., Brat S.V. y Williams G.M. (1981b). Sister-chromatid exchange induction by polycyclic aromatic hydrocarbons in an intact cell system of adult rat-liver epithelial cells. *Mutat. Res.* 91, 467-473.
- Tong H.Y. y Karasek F.W. (1984). Quantitation of polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel exhaust particulate matter by high-performance liquid chromatography fractionation and high-resolution gas chromatography. *Anal. Chem.* 56, 2129-2134.
- Tsunoda T., Yamaoka T. y Nagamatsu G. (1973). Special sensitization of bisazide compounds. *Photogr. Sci. Eng.* 17, 390-393.
- Valencia R., Mason J.M., Woodruff R.C. y Zimmering S. (1985). Chemical mutagenesis testing in *Drosophila*. III. Results of 48 coded compounds tested for the National Toxicology Program. *Environ. Mutagen.* 7, 325-348.
- Vance W.A y Levin D.E. (1984). Structural features of nitroaromatics that determine mutagenic activity *Salmonella typhimurium*. *Environ. Mutagen.* 6, 797-811.
- Van Schaik N. y Graf U. (1991). Genotoxicity evaluation of five tricyclic antidepressants in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 260, 99-104.
- Varanasi U. y Gmur D.J. (1981). Hydrocarbons and metabolites in English sole (*Parophrys vetulus*) exposed simultaneously to (³H)Benzo(a)pyrene and (¹⁴C)Naphthalene in oil-contaminated

- sediment. *Aquat. Toxicol.* 1, 49-67.
- Vogel E.W., Blijleven W.G.H., Klapwijk P.M. y Zijlstra J.A. (1980). Some current perspectives of the application of *Drosophila* in the evaluation of carcinogens. En: The Predictive Value of Short-Term Screening Tests in Carcinogenicity (G.M. Williams, R. Kroes, H.W. Waaijers y K.W. van de Poll, Eds.), Elsevier Biomedical, Amsterdam, pp. 125-147.
- Vogel E.W., Zijlstra J.A. y Blijleven W.G.H. (1983). Mutagenic activity of selected aromatic amines and polycyclic hydrocarbons in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 107, 53-77.
- Wang Y.Y., Rappaport S.M., Sawyer R.F., Talcott R.E. y Wei E. (1978). Direct-acting mutagens in automobile exhaust. *Cancer Lett.* 5, 39-47.
- Weast R.C. (1985). CRC Handbook of Chemistry and Physics. 66th ed., Boca Raton, FL, CRC Press, p.C-361.
- Williams G.M. (1977). Detection of chemical carcinogens by unscheduled DNA synthesis in rat liver primary cell cultures. *Cancer Res.* 37, 1845-1851.
- Windholz M., Ed. (1983). The Merck Index. 10th ed., Rahway, NJ, Merck y Co., p. 949.
- Wise S.A., Chesler S.N., Hilpert L.R., May W.E., Rebbert W.E., Vogt C.R., Nishioka M.G., Austin A. y Lewtas J. (1985). Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitro-substituted polycyclic aromatic hydrocarbons and mutagenicity testing for the characterization of ambient air particulate

- matter. Environ. Int. 11, 147-160.
- Würgler F.E. y Vogel E.W. (1986). In vivo mutagenicity testing using somatic cells of *Drosophila melanogaster*. En: Chemical Mutagens, Principles and Methods for their Detection (F.J. de Serres, Ed.), Vol. 10, Plenum Press, Nueva York, pp. 1-72.
- Wynder E.L. y Hoffmann D. (1959). A study of tobacco carcinogenesis. VII. The role of higher polycyclic hydrocarbons. Cancer 12, 1079-1086.
- Xu X.B., Nachtman J.P., Jin Z.L., Wei E.T. y Rappaport S.M. (1982). Isolation and identification of mutagenic nitro-PAH in diesel-exhaust particulates. Anal. Chem. Acta 136, 163-174.
- Yahagi T., Shimizu H., Nagao M., Takemura N. y Sugimura T. (1975). Mutagenicity of 5-nitroacenaphthene in *Salmonella*. Gann. 66, 581-582.
- Zijlstra J.A., Klapwijk W.G.H., Blijleven W.G.H. y Vogel E.W. (1981). In vitro and in vivo metabolic activation of some procarcinogens in *Drosophila melanogaster*. Mutat. Res. 85, 272.
- Zijlstra J.A. y Vogel E.W. (1984). Mutagenicity of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene and some aromatic mutagens in *Drosophila melanogaster*. Mutat. Res. 125, 243-261.

TABLA I. EFECTO GENETICO DE NAFTALENO EN DIVERSOS ORGANISMOS

ORGANISMO	PRUEBA	ACTIVACION METABOLICA	EFECTO	REFERENCIAS
Ratones macho ICR	Micronúcleos	<u>in vivo</u>	Positivo	Harper <u>et al.</u> 1984
<u>Escherichia coli</u> Pq37	SOS	Con	Negativo	Merach-Sundermann <u>et al.</u> 1992
<u>Salmonella typhimurium</u> TA1535, TA1537, TA1538, TA98 y TA100	Retromutación (his ⁻ /his ⁺)	Sin	Negativo	McCann <u>et al.</u> 1975 Brune <u>et al.</u> 1979 Bartsch <u>et al.</u> 1980 Haworth <u>et al.</u> 1983 Sakai <u>et al.</u> 1985 Brana <u>et al.</u> 1987 Lewis <u>et al.</u> 1990
Células radiculares de <u>Vicia faba</u>	Aberraciones cromosómicas	<u>in vivo</u>	Positivo	Martín del Campo y Gómez-Arroyo 1984

TABLA II. EFECTO GENETICO DE 1-NITRONAFTALENO EN DIVERSOS ORGANISMOS

ORGANISMO	PRUEBA	ACTIVACION METABOLICA	EFFECTO	REFERENCIAS
<u>Salmonella typhimurium</u> TA1535, TA1538, TA98, TA98 NR TA100, TA100 NR	Retromutación (his ⁻ /his ⁺)	Con (Nitro- reductasas)	Positivo	Scribner <i>et al.</i> 1979 El-Bayoumy <i>et al.</i> 1981 Matsuda 1981 McCoy <i>et al.</i> 1981 Tokima <i>et al.</i> 1981 Lofroth <i>et al.</i> 1984 Vance y Levin 1984 Dunkel <i>et al.</i> 1985 Mortelmans <i>et al.</i> 1986 Ashby y Tennant 1991
<u>Salmonella typhimurium</u> TA97 y TA1537	Retromutación (his ⁻ /his ⁺)	Sin	Negativo	McCoy <i>et al.</i> 1981 Dunkel <i>et al.</i> 1985 Rosenkranz <i>et al.</i> 1985 Mortelmans <i>et al.</i> 1986
<u>Escherichia coli</u> WP2 uvrA	Mutación (polA ⁻ /polA ⁺)	Sin	Negativo	Dunkel <i>et al.</i> 1985
<u>Escherichia coli</u> P037	SOS	Sin	Negativo	McCoy <i>et al.</i> 1981
<u>Drosophila melanogaster</u>	Mutaciones letales recesivas ligadas al sexo	<i>in vivo</i>	Negativo	Valencia <i>et al.</i> 1985
Células de cri- ceto V79	Intercambio de cromátidas her- manas y 6TG ^B /6TG ^R	<i>in vitro</i>	Positivo	Boyes <i>et al.</i> 1991

TABLA III. EFECTO GENETICO DE 1,5-DINITRONAFTALENO EN ALGUNOS ORGANISMOS

ORGANISMO	PRUEBA	ACTIVACION METABOLICA	EFECTO	REFERENCIAS
<u>Salmonella typhimurium</u> TA97 y TA98 NR	Retromutación (his ⁻ /his ⁺)	Con (Nitro- reductasas)	Positivo	McCoy <u>et al.</u> 1981 Tokita <u>et al.</u> 1985
<u>Escherichia coli</u> P037	SOS	Con (S9)	Positivo	McCoy <u>et al.</u> 1981

TABLA IV. EFECTO GENÉTICO DEL ANTRACENO EN DIVERSOS ORGANISMOS

ORGANISMO	PRUEBA	ACTIVACION METABOLICA	EFECTO	REFERENCIAS
<u>Escherichia coli</u>	Mutación (poA ⁺ /poA ⁻)	Sin	Negativo	Rosenkranz y Poirier 1979
<u>Bacillus subtilis</u>	Mutación (rec ⁺ /rec ⁻)	Sin	Negativo	McCarroll <u>et al.</u> 1981
<u>Salmonella typhimurium</u> TA1535, TA1538,	Retromutación (his ⁺ /his ⁻)	Sin	Negativo	McCann <u>et al.</u> 1975 Simmon 1979a LaVoie <u>et al.</u> 1979 Salomone <u>et al.</u> 1979 de Serres y Ashby 1981 Ho <u>et al.</u> 1981
<u>Salmonella typhimurium</u> TA98 y TA100	Mutación (BAG ⁺ /BAG ⁻)	Sin	Negativo	Kaden <u>et al.</u> 1979
<u>Saccharomyces cerevisiae</u> D3	Recombinación mitótica	Sin	Negativo	Simmon 1979b de Serres y Ashby 1981
Hepaticitos primarios de rata	DNA no programado	<u>in vivo</u>	Negativo	Williams 1977 Probst <u>et al.</u> 1981 Tong <u>et al.</u> 1981a
Células HeLa	DNA no programado	<u>in vitro</u>	Negativo	Martin <u>et al.</u> 1978 Martin y McDermid 1981
Células de crí-ceto V79	Mutación (6Tc ^R /6Tc ^S)	<u>in vitro</u>	Negativo	Knaap <u>et al.</u> 1981
Células de linfoma de ratón L5178Y	Mutación locus timidina kinesi	<u>in vitro</u>	Negativo	Anecher y Turner 1980 Anecher <u>et al.</u> 1980
Células humanas linfoblastoides TK6	Mutación locus timidina kinesi	<u>in vitro</u>	Negativo	Barfknecht <u>et al.</u> 1981

TABLA IV (Cont.). EFECTO GENÉTICO DEL ANTRACENO EN DIVERSOS ORGANISMOS

ORGANISMO	PRUEBA	ACTIVACION METABOLICA	EFECTO	REFERENCIAS
Células de criceto D6	Intercambio de cromátidas hermanas y rompimientos cromosómicos	<u>in vitro</u>	Negativo	Abe y Sasaki 1977
Células de médula ósea de criceto	Intercambio de cromátidas hermanas y aberraciones cromosómicas	<u>in vitro</u>	Negativo	Rozinsky-Kocher <u>et al.</u> 1979
Células epiteliales de hígado rate ARL1B	Intercambio de cromátidas hermanas	<u>in vitro</u>	Negativo	Tong <u>et al.</u> 1981b
Células de médula ósea de ratón	Micronúcleos	<u>in vitro</u>	Negativo	Salamone 1981

TABLA V. EFECTO GENETICO DE 9-NITROANTRACENO EN DIVERSOS ORGANISMOS

ORGANISMO	PRUEBA	ACTIVACION METABOLICA	EFECTO	REFERENCIAS
<u>Escherichia coli</u> pa37	SOS	Sin	Negativo	Grelbakk <u>et al.</u> 1983
<u>Salmonella typhimurium</u> TA98 y TA100	Retromutación (his ⁺ /his [*])	Con/Sin	Positivo	Wang <u>et al.</u> 1978 Ho <u>et al.</u> 1981 Pederson y Siak 1981 Yokawa <u>et al.</u> 1981 Pitta <u>et al.</u> 1982 Grelbakk <u>et al.</u> 1983
<u>Salmonella typhimurium</u> TA98 y TA100 (incubación en condiciones anaeróbicas)	Retromutación (his ⁺ /his [*])	Con	Positivo	Pederson y Siak 1981 Grelbakk <u>et al.</u> 1983 IARC 1987

TABLA VI. EFECTO GENETICO DE FENANTRENO EN DIVERSOS ORGANISMOS

ORGANISMO	PRUEBA	ACTIVACION METABOLICA	EFECTO	REFERENCIAS
<u>Escherichia coli</u> pa37	SOS	Con/Sin	Negativo	Merach-Sundermann <u>et al.</u> 1992
<u>Salmonella typhimurium</u> TA1535, TA1537, TA1538, TA98 y TA100	Retromutación (his ⁻ /his ⁺)	Sin	Negativo	McCann <u>et al.</u> 1975 Brune <u>et al.</u> 1979 Bertsch <u>et al.</u> 1980 Haworth <u>et al.</u> 1983 Sakai <u>et al.</u> 1985 Brann <u>et al.</u> 1987
<u>Salmonella typhimurium</u> TA97	Retromutación (his ⁻ /his ⁺)	Con	Positivo	Sakai <u>et al.</u> 1985

TABLA VII. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA SMART DEL ALA DE *Drosophila melanogaster* CON LA CRUZA E

Con- puesto ti- pico	Can- tidad de alas	Manchas / ala (Cantidad de manchas)			Decisión est.*		
		Manchas simples chicas (1-2 cél.) m = 2.00	Manchas simples grandes (≥2 cél.) m = 5.00	Manchas dobles m = 5.00		Manchas totales m = 2.00	
TESTIGO NEGATIVO (5% TWEEN 80 y 5% ETANOL)							
	200	0.26 (53)	0.04 (8)	0.00 (1)	0.31 (62)		
NAFTALENO **							
1	40	0.37 (15)d	0.05 (2)d	0.05 (2)d	0.47 (19)d		
5	48	0.50 (24)+	0.10 (5)d	0.00 (0)d	0.60 (29)+		
10	52	1.06 (55)+	0.06 (3)d	0.02 (1)d	1.13 (59)+		
20	22	0.45 (10)d	0.05 (1)d	0.00 (0)d	0.50 (11)d		
1-NITRONAFTALENO **							
1	24	0.21 (5)-	0.04 (1)d	0.04 (1)d	0.29 (7)-		
2	16	0.50 (8)d	0.06 (1)d	0.06 (1)d	0.62 (10)+		
5	24	0.83 (20)+	0.04 (1)d	0.00 (0)-	0.87 (21)+		
10		T	O	X	I	C	O
1,5-DINITRONAFTALENO **							
1	20	0.65 (13)+	0.05 (1)d	0.00 (0)d	0.70 (14)+		
5	24	0.12 (3)-	0.00 (0)-	0.00 (0)d	0.12 (3)-		
10	22	0.64 (14)+	0.09 (2)d	0.00 (0)d	0.73 (16)+		
20	24	0.29 (7)d	0.04 (1)d	0.00 (0)d	0.33 (8)d		
50	18	0.50 (9)d	0.00 (0)d	0.00 (0)d	0.50 (9)d		
100	28	0.50 (14)+	0.07 (2)d	0.00 (0)d	0.57 (16)+		
ANTRACENO ***							
1	200	0.42 (84)+	0.07 (14)-	0.02 (4)d	0.51 (102)+		
5	200	0.30 (60)-	0.09 (17)-	0.01 (2)d	0.40 (79)-		
10	160	0.37 (59)(+)	0.09 (15)+	0.05 (8)+	0.51 (82)+		
20	80	0.29 (23)-	0.05 (4)-	0.01 (1)d	0.35 (28)-		
50	80	0.25 (20)-	0.01 (1)-	0.03 (2)d	0.29 (23)-		
100		T	O	X	I	C	O
9-NITROANTRACENO ***							
1	78	0.37 (29)+	0.06 (5)d	0.01 (1)d	0.45 (35)+		
5	40	0.30 (12)+	0.10 (4)d	0.00 (0)d	0.40 (16)+		
10	22	0.36 (8)+	0.14 (3)d	0.05 (1)d	0.55 (12)+		
20	14	1.14 (16)+	0.00 (0)d	0.00 (0)d	1.14 (16)+		
50		T	O	X	I	C	O
FENANTRENO **							
1	88	0.39 (34)-	0.03 (3)-	0.05 (4)d	0.47 (41)-		
2.5	150	0.39 (58)-	0.05 (7)d	0.01 (1)d	0.44 (66)-		
5	160	0.30 (48)-	0.08 (12)d	0.01 (1)d	0.38 (61)-		
10	36	0.28 (10)-	0.06 (2)d	0.00 (0)d	0.33 (12)-		
20		T	O	X	I	C	O
7,12-DIMETILBENZO(A)ANTRACENO							
5	20	2.20 (44)+	1.55 (31)+	0.45 (9)+	4.20 (84)+		
N-NITROSPIRROLIDINA							
10	20	0.80 (16)+	0.30 (6)d	0.10 (2)d	1.20 (24)+		

* El diagnóstico estadístico se realizó según Frei y Würgler (1988). + = positivo; - = negativo; (+) = débil positivo; d = dudoso; m = factor de multiplicación. Grados de probabilidad de error: $\alpha = \beta = 0.05$

** Dos experimentos

*** Tres experimentos

TABLA VIII. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA SMART DEL ALA DE *Drosophila melanogaster* CON LA CRUZA AB

Com- puesto	Can- ti- dad de alas	Manchas / ala (Cantidad de manchas)			Decisión est.*		
		Manchas simples chicas (1-2 cél.) m = 2.00	Manchas simples grandes (>2 cél.) m = 5.00	Manchas dobles m = 5.00		Manchas totales m = 2.00	
TESTIGO NEGATIVO (5% TWEEN 80 y 5% ETANOL)							
	292	0.30 (89)	0.04 (12)	0.03 (8)	0.37 (109)		
NAFTALENO **							
1	330	0.45 (150)(+)	0.12 (40)+	0.02 (6)-	0.59 (196)(+)		
5	236	0.78 (184)+	0.29 (68)+	0.09 (21)+	1.16 (273)+		
10	58	0.81 (47)+	0.41 (24)+	0.17 (10)+	1.40 (81)+		
20		T	O	X	I	C	O
1-NITRONAFTALENO **							
1	40	0.77 (31)+	0.05 (2)-	0.00 (0)-	0.82 (33)+		
2	64	0.66 (42)+	0.08 (5)-	0.03 (2)-	0.77 (49)+		
5	8	0.87 (7)+	0.12 (1)d	0.00 (0)d	1.00 (8)+		
10		T	O	X	I	C	O
1,5-DINITRONAFTALENO **							
1	50	0.54 (27)+	0.08 (4)d	0.04 (2)d	0.66 (33)+		
5	48	0.65 (31)+	0.10 (5)d	0.02 (1)-	0.77 (37)+		
10	34	0.71 (24)+	0.03 (1)-	0.03 (1)d	0.76 (26)+		
20	42	0.74 (31)+	0.02 (1)-	0.02 (1)d	0.79 (33)+		
50	64	0.56 (36)+	0.06 (4)-	0.00 (0)-	0.62 (40)+		
100	86	0.49 (42)+	0.08 (7)-	0.01 (1)-	0.58 (50)+		
ANTRACENO ***							
1	212	0.51 (108)+	0.04 (9)-	0.02 (4)-	0.57 (121)(+)		
5	204	0.62 (127)+	0.07 (14)-	0.00 (0)-	0.69 (141)+		
10	242	0.50 (122)+	0.03 (8)-	0.00 (1)-	0.54 (131)(+)		
20	108	0.48 (52)+	0.08 (9)-	0.02 (2)-	0.58 (63)(+)		
50	172	0.41 (70)(+)	0.05 (9)-	0.01 (1)-	0.47 (80)-		
100		T	O	X	I	C	O
9-NITROANTRACENO ***							
1	236	0.54 (127)+	0.06 (14)-	0.00 (1)-	0.60 (142)+		
5	222	0.39 (86)(+)	0.06 (13)-	0.01 (3)-	0.46 (102)-		
10	112	0.62 (69)+	0.10 (11)+	0.01 (1)-	0.72 (81)+		
20	40	0.45 (18)d	0.08 (3)d	0.03 (1)d	0.55 (22)d		
50	64	0.52 (33)+	0.03 (2)-	0.00 (0)-	0.55 (35)d		
100		T	O	X	I	C	O
FENANTRENO **							
1	150	0.44 (66)(+)	0.08 (12)-	0.03 (4)-	0.55 (82)(+)		
2.5	120	0.62 (75)+	0.05 (6)-	0.05 (6)d	0.73 (87)+		
5	126	0.56 (70)+	0.12 (15)+	0.03 (4)-	0.71 (89)+		
10	44	0.66 (29)+	0.07 (3)d	0.09 (4)d	0.82 (36)+		
20		T	O	X	I	C	O
7,12-DIMETILBENZO(A)ANTRACENO							
5	20	2.95 (59)+	2.30 (46)+	0.60 (12)+	5.85 (117)+		
N-NITROSPÍRROLIDINA							
10	20	3.00 (60)+	2.70 (54)+	1.55 (31)+	7.25 (145)+		

* El diagnóstico estadístico se realizó según Frei y Würigler (1988). + = positivo; - = negativo; (+) = débil positivo; d = dudoso; m = factor de multiplicación. Grados de probabilidad de error: $\alpha/\beta=0.05$

** Dos experimentos
*** Tres experimentos

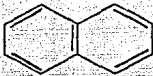
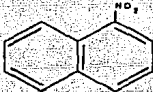
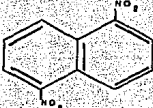

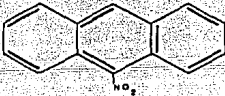

NOMBRE DEL COMPUESTO	PESO MOLECULAR	FORMULA ESTRUCTURAL
Naftaleno	128.18	
1-Nitronaftaleno	173.17	
1,6-Dinitronaftaleno	218.17	
Antraceno	178.22	
9-Nitroantraceno	223.23	
Fenantreno	178.22	

FIG. 1 ESTRUCTURA QUIMICA DE LOS COMPUESTOS PROBADOS

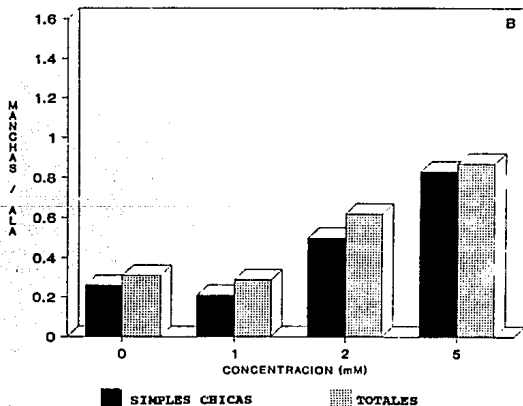
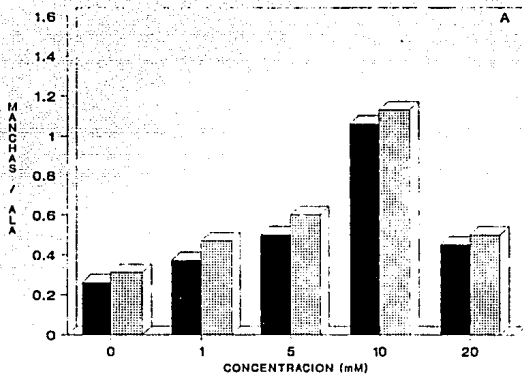


FIG. 2 FRECUENCIAS DE MANCHAS ALARES EN ADULTOS PRODUCIDAS EN LARVAS DE 72 h ALIMENTADAS DURANTE 48 h CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE NAFTALENO (A) Y 1-NITRONAFTALENO (B) EN LA CRUZA E

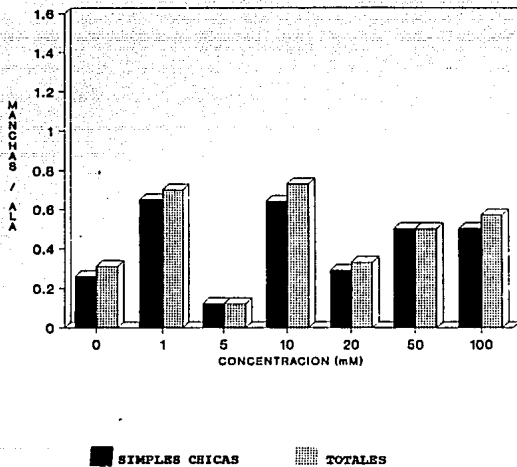
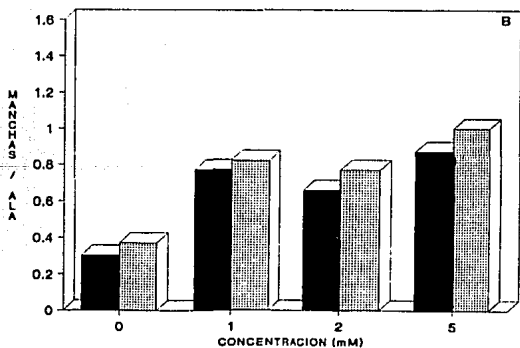
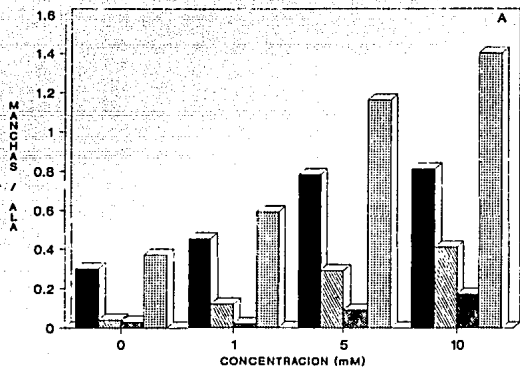
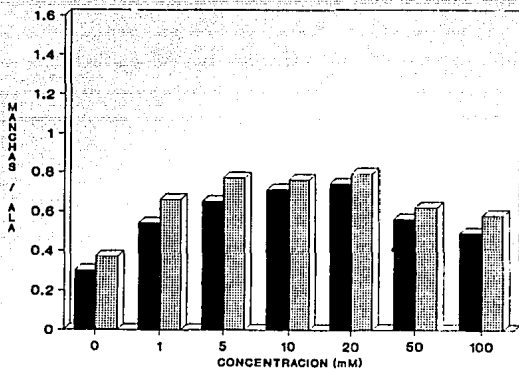


FIG. 3 FRECUENCIAS DE MANCHAS ALARES EN ADULTOS PRODUCIDAS EN LARVAS DE 72 h ALIMENTADAS DURANTE 48 h CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE 1,5-DINITROFLUORENO EN LA CRUZA E



SIMPLES CHICAS
 SIMPLES GRANDES
 DOBLES
 TOTALES

FIG. 4 FRECUENCIAS DE MANCHAS ALARES EN ADULTOS PRODUCIDAS EN LARVAS DE 72 h ALIMENTADAS DURANTE 48 h CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE NAFTELENO (A) Y 1-NITRONAFTELENO (B) EN LA CRUZA AB



SIMPLES CHICAS
 TOTALES

FIG. 5 FRECUENCIAS DE MANCHAS ALARES EN ADULTOS PRODUCIDAS EN LARVAS DE 72 h ALIMENTADAS DURANTE 48 h CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE 1,5-DINITRONAFTALENO EN LA CRUZA AB

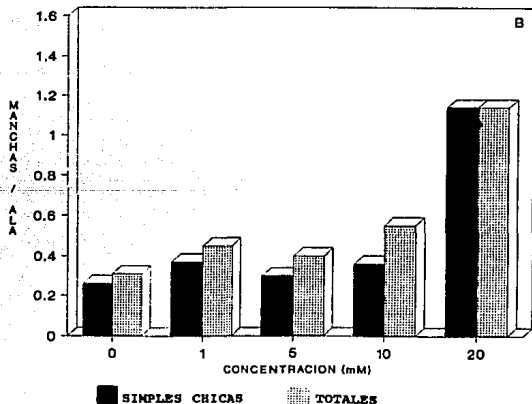
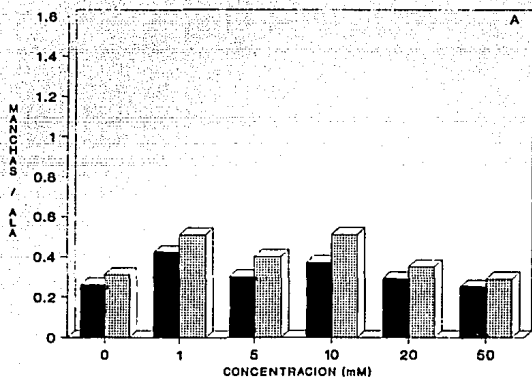


FIG. 6 FRECUENCIAS DE MANCHAS ALARES EN ADULTOS PRODUCIDAS EN LARVAS DE 72 h ALIMENTADAS DURANTE 48 h CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE ANTRACENO (A) Y 9-NITROANTRACENO (B) EN LA CRUZA E

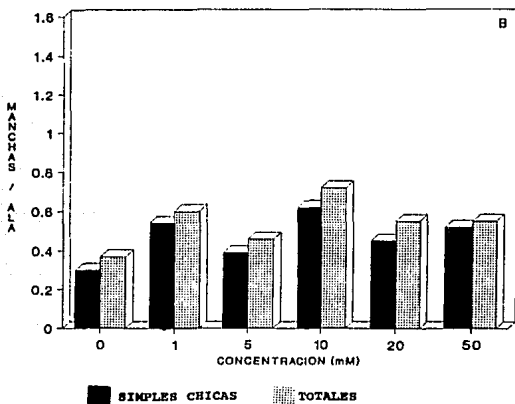
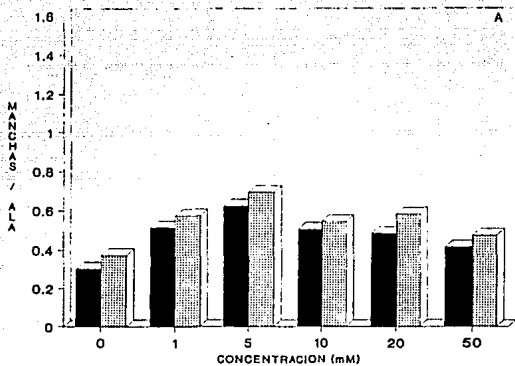


FIG. 7 FRECUENCIAS DE MANCHAS ALARES EN ADULTOS PRODUCIDAS EN LARVAS DE 72 h ALIMENTADAS DURANTE 48 h CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE ANTRACENO (A) Y 9-NITROANTRACENO (B) EN LA CRUZA AB

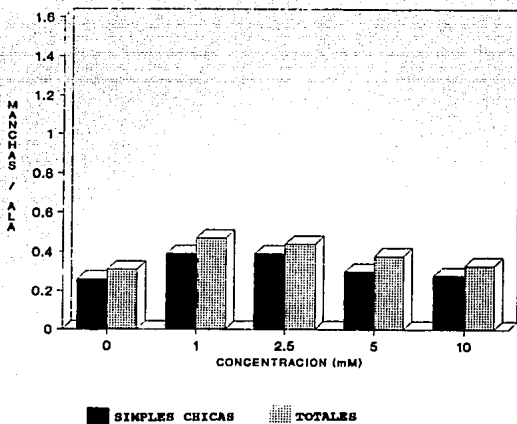
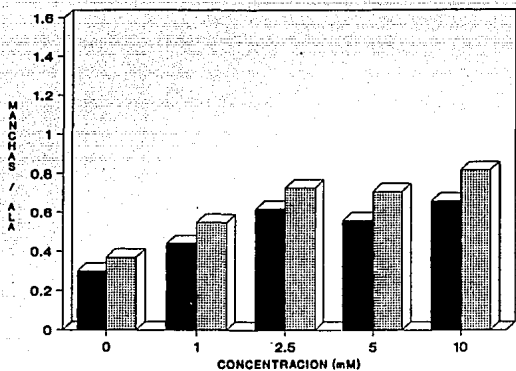


FIG. 8 FRECUENCIAS DE MANCHAS ALARES EN ADULTOS PRODUCIDAS EN LARVAS DE 72 h ALIMENTADAS DURANTE 48 h CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE FENANTRENO EN LA CRUZA E



SIMPLES CHICAS
 TOTALES

FIG. 9 FRECUENCIAS DE MANCHAS ALARES EN ADULTOS PRODUCIDAS EN LARVAS DE 72 h ALIMENTADAS DURANTE 48 h CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE FENANTRENO EN LA CRUZA AB