

Aumento de la sensibilidad del ensayo del cometa para evaluar la genotoxicidad de compuestos químicos

Azqueta, Amaya¹; Lopez de Cerain, Adela¹; Collins, Andrew²

¹Departamento de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología, Universidad de Navarra, Irunlarrea 1, 31008 Pamplona, España; ²Departamento de Nutrición, Universidad de Oslo, PO Box 1046 Blindern, 0316 Oslo, Noruega

El ensayo del cometa es ampliamente utilizado en estudios de genotoxicidad. La OCDE contempla su versión *in vivo* en su estrategia para testar la genotoxicidad de compuestos y JaCVAM está llevando a cabo ensayos de validación tanto *in vitro* como *in vivo*.

Este ensayo detecta roturas (y lugares álcali-lábiles) en el ADN pero muchos compuestos que dañan el ADN no producen este tipo de lesión. El uso de enzimas del sistema de reparación del ADN bacteriano en combinación con el ensayo del cometa permite la detección de otras lesiones. Así, la enzima formamido pirimidin DNA glicosilasa (FPG) detecta bases púricas oxidadas y algunas bases alquiladas.

El objetivo de este trabajo es comparar los resultados obtenidos tras estudiar la genotoxicidad *in vitro* de 7 compuestos con el ensayo del cometa con y sin la enzima FPG. Se utilizó un compuesto no citotóxico - ácido etilendiamonitetraacético (EDTA)-, 2 citotóxicos no genotóxicos -triton X-100 y fluometurón- y 4 genotóxicos - benzo[a]pireno (BaP), N-metil-N-nitrosourea (MNU), metilmetanosulfonato (MMS) y 4-nitroquinolina-1-óxido (4NQO)-. Se utilizó la línea celular TK-6, derivada de linfoblastoma humano, y 3 horas de tratamiento. El ensayo fue realizado utilizando el formato de 12 minigeles por portaobjetos y la cámara de incubación de Severn. La citotoxicidad fue medida realizando el ensayo de proliferación celular y calculando los porcentajes de inhibición (IC).

EDTA y fluometurón no indujeron resultados positivos mientras que el Tritón X-100 mostró resultados no concluyentes. MMS y 4NQO produjeron roturas a partir de la IC40 e IC20 respectivamente, mientras que la enzima FPG reveló lesiones a partir de la IC10. BaP mostró un claro aumento de las roturas a partir de la IC80 mientras que la enzima FPG reveló lesiones a partir de una IC0. MNU no indujo roturas a las concentraciones utilizadas (hasta la IC40) pero la enzima FPG reveló lesiones a partir de la IC10. Estos resultados demuestran que el ensayo del cometa en combinación con la enzima FPG mejora su sensibilidad en la detección de compuestos genotóxicos sin afectar a su selectividad.