

ACCION " in vitro " EN CULTIVOS CELULARES DEJ. DES.

A. Borregón, F. Sanz, A. Santa María, J. Salas, C. Becerril, M. Martín, C. Caballo, M. Barea, A. García, M. Fernández, M.T. Pollastrini. Servicio Toxicología. (CENAN)

MATERIAL Y METODO:

PRODUCTO ESTUDIADO:

Dietilestilbestrol, Merck (Darmstadt, Alemania).

CULTIVO CELULAR:

Se utilizan lineas celulares de fibroblastos humanos de piel y músculo (Fc). Las células se mantienen con pases cada cinco días; el crecimiento tiene lugar en monocapa en frascos Falcón (Corning) con medio Fagle'S BME (Flow) suplementado con 10% de suero de ternera fetal.

En nuestros ensayos la toxicidad se expresa en terminos de alteraciones morfológicas y de variaciones del crecimiento o viabilidad celular estudiándose tambien las aberraciones cromosómicas.

VIABILIDAD CELULAR:

Se utilizan 6 dosis diferentes del producto problema; con cada una de ellas se realiza el contaje celular para calcular el tanto por ciento de inhibición de crecimiento; realizándose con los controles la misma operación. (ver cuadro)

ALTERACIONES MORFOLOGICAS:

Con la dosis anteriormente citadas y a la luz del microscopio se estudian las alteraciones producidas en diferentes casos.

Cuando la monocapa es confluyente en los CONTROLES se realiza la tinción con hematoxilina eosina para la posterior observación al microscopio (ver cuadro); utilizando el siguiente criterio:

- (-) ninguna célula alterada
- (+) menos del 15% de las células alteradas
- (++) 15-25% de las células alteradas
- (+++) 25-50% de las células alteradas
- (++++) más del 50% de las células alteradas

ABERRACIONES CROMOSOMICAS:

Los ensayos se han realizado con las mismas dosis que en las pruebas anteriores. El número de células con aberraciones cromosómicas se estudió sobre 100 metafases escomitadas de un total de 300, siguiendo un criterio similar al expuesto anteriormente. En los controles la incidencia del fenómeno de poliploidia o de aberraciones cromosómicas no fue superior al 3% por lo que no es significativo.

BIBLIOGRAFIA:

ELSEVIER North-Holland (1980)
 GLATT A.R et al. Mut. Res. 67 113-121 (1979)
 IARC Monographs. Siplemet. 2 (1980)
 ISHIDATE M. and ODASHIMA, Mut. Res. 48 337-359 (1977)
 PAUL, J. fifth Ed. CHURCHILL L. Edinburgh 1975 (1980)

DOSIS DE DES	INHIBICION DE CRECIMIENTO	ALTERACIONES MORFOLOGICAS	ABERRACIONES CROMOSOMICAS
CONTROL	—	—	—
DISOLVENTE	—	—	—
0,2 ppb	+	+	+
2ppb	++	++	++
1 ppm	+++	+++	+++
5ppm	++++	++++	++++
10ppm	++++	++++	++++
15ppm	++++	+++	++++