

EFFECTO MUTAGENO DEL LSD-25 EN DROSOPHILA MELANOGASTER

Por: M.L.Bravo A.(1)

RESUMEN

Se estudió el efecto mutágeno del LSD-25 utilizando la prueba de mutaciones letales recesivas ligadas al cromosoma X en espermatozoides maduros de Drosophila melanogaster.

Los machos se obtuvieron de una cepa Oregon - R, purificada. La frecuencia de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo es significativamente superior ($P < 0.01$) en los cromosomas expuestos al LSD - 25, que en los del control. Aunque el número de cromosomas analizados, es reducido, los resultados son coincidentes con los de otros investigadores. En conclusión se observó efecto del LSD-25 sobre el material genético, y no en la fertilidad.

INTRODUCCION

Hace aproximadamente 15 años el Acido Lisérgico Dietilamida (LSD) fue introducido en el ambiente humano con uso intensivo en el campo sicoterapéutico y en el mundo ilegal de los drogómanos.

Químicamente el LSD es un alcaloide aminado (como se muestra en la figura 1)(17) que produce contracciones uterinas, ligera vasoconstricción e importantes efectos sobre el sistema nervioso central (13,25). Sin embargo las mas serias presunciones sobre el uso de esta droga son los disturbios psicológicos y el posible efecto en el material genético con implicaciones teratógenas (12,16,19), mutágenas (7,23,28,29) citogénicas (6,8,9,10,12) y oncógenas (15). Cohen y Shiloh (11) hicieron una revisión completa de un extenso número de estudios realizados en este sentido, y por la discrepancia de los resultados concluyeron que no hay criterio suficiente para que el LSD-25 sea agregado a la ya larga lista de los mutágenos químicos ambientales.

Con el fin de aportar alguna luz sobre el efecto mutágeno del LSD-25 realizamos la presente investigación utilizando Drosophila melanogaster.

MATERIALES Y METODOS

La prueba utilizada para conocer la actividad mutágena del LSD fue el de las mutaciones letales recesivas ligadas al cromosoma X en espermatozoides maduros de Drosophila melanogaster.

Cepas: Oregon - R (purificada) como fuente de machos y la de FM6 de hembras, cuya descripción se encuentra en Lindsley y Grell (22); LSD-25 puro de Sandoz (pero molecular 323). Previamente se elaboró una cepa Oregon - R homocigótica para el cromosoma X. Como se muestra en la figura 2, la primera parte de este procedimiento es similar al que se utiliza en la prueba de letales recesivos ligados al sexo (1).

(1) Profesora Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

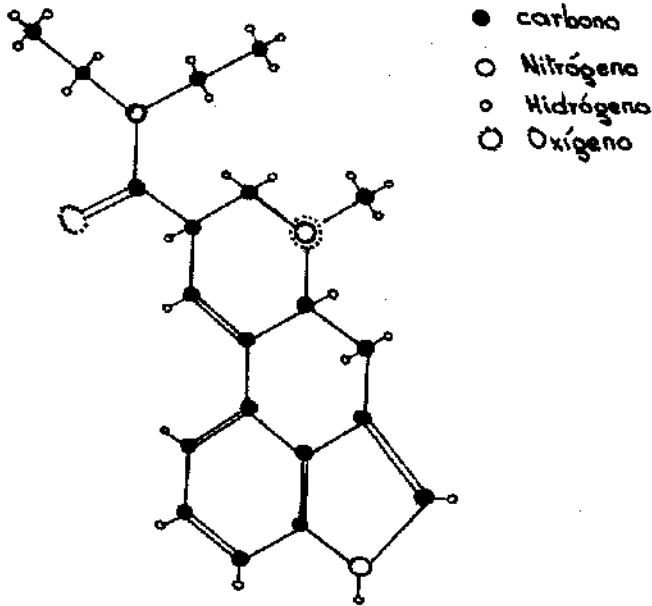


Figura 1.
Molécula de ácido lisérgico dietilamida (LSD-25), alcaloide aminado,
sintetizado por Hoffman en 1938 (17).

Cuando en la F₂ las frecuencias observadas, se ajustan a las esperadas, los machos se cruzan con hembras vírgenes XFM6/X, y de la F₃ se toman los machos X/Y y las hembras vírgenes X/X (Fig.2), las cuales se reconocen porque no presentan el fenotipo semi-Bar. De esta cepa se obtuvieron los machos recién nacidos, los que se mantuvieron aislados de las hembras durante tres días, a fin de que almacenen espermatozoides maduros(4), luego se les trasladó a un frasco de cultivo sin alimento, y se les suministró oralmente la droga, con la ayuda de un papel filtro No.3 humedecido en una solución de glucosa al 10o/o y LSD-25 a una concentración de 0,01 M, durante el período de tratamiento, se mantuvo siempre húmedo el papel filtro, lo que se hizo con una jeringa hipodérmica, que atravesó el tapón del frasco, donde se encontraban los machos sometidos al tratamiento, los que, al cabo de 36 horas se cruzaron con hembras vírgenes de la cepa FM6, y según el procedimiento descrito por Bravo (4), a las 24 horas del cruce, se separaron los machos de las hembras, para asegurar que estas recibirán únicamente los espermatozoides que estuvieron plenamente maduros en el período del tratamiento (21) y así garantizar que en esta prueba, se tomaron únicamente espermatozoides maduros para evaluar el potencial mutágeno del LSD-25, de este primer cruce se obtuvo la F₁, en la cual las hembras son portadoras del cromosoma X, expuesto a la acción de la droga, del cruce F₁ x F₁ se obtiene la F₂, en la que se puede detectar, mutaciones letales recesivas ligadas al sexo, por ausencia de machos silvestres (1,4). En el control el tratamiento fue con glucosa únicamente. Para la significación estadística se utilizó la prueba de X² (27).

RESULTADOS

Los resultados se muestran en la Tabla I. La frecuencia de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo, en los espermatozoides expuestos al LSD-25, es significativamente mayor ($P < 0,01$) que la del control, y la frecuencia de hembras estériles, aunque es mayor en los cromosomas tratados con la droga, que en los del control, no es estadísticamente significativa.

DISCUSION

La concentración de LSD-25, utilizado en esta investigación (0,01 M = 3230Mg/1 ml) es muy elevada, comparada con la que ingieren los drogadictos (0,01 - 20,00Mg/ml) (11), pero es más aproximada a las dosis suministradas a los pacientes esquizofrénicos paranoicos (200 - 800 y 2500 Mg/ml) (11). Las concentraciones empleadas en *Drosophila*, para averiguar el efecto de esta droga sobre el material genético, es muy variable, va desde 500 Mg/ml hasta 4.000.00 Mg/ml (5), 2000 veces mayor que la consumida por los humanos (11).

Los resultados de esta investigación muestran efecto mutagénico del LSD-25 en espermatozoides maduros de *Drosophila*, apoyando así consistentemente los hallazgos de varios investigadores, en diversos organismos (3,5,9,12,23,28,32) que el LSD-25, en ciertas condiciones, actúa de alguna forma sobre el material genético (18). En *Drosophila* se ha realizado una apreciable cantidad de experimentos para detectar la mutagenidad de esta droga, los resultados son contradictorios, en el sentido de que algunos muestran al LSD-25 como un agente mutágeno (3,5,26), y otros no (14,30,31), resultados que son independientes de la forma en que fue suministrada la droga, oral (11,26,30,31) o por inyección intraperitoneal (5,31).

Nuestros hallazgos, por ser, significativamente ($P < 0,05$) positivos para la mutagenidad del LSD-25, son coincidentes con los reportados por Muñoz (26), Browning (5) y Banett (3), quienes también utilizaron la prueba de mutaciones letales recesivas ligadas al cromosoma X, en machos de *Drosophila melanogaster*, Muñoz (26) trató con la droga, espermatozoides maduros, mediante inyección intraperitoneal, Browning (5) empleó dosis mayores (hasta de 4000 Mg/ml) que las utilizadas por nosotros (3230Mg/ml) y encontró un marcado incremento de mutaciones letales recesivas y también pudo detectar efecto de dosis. El número de cromosomas analizados por nosotros es reducido (Tabla I), sin embargo los resultados están plenamente de acuerdo, con los reportados por Banett (3), quien con un procedimiento similar al nuestro, observó un significativo efecto mutágeno del LSD-25 en espermatozoides maduros, cuando los machos son cruzados inmediatamente después de la exposición a la droga, lo cual podría sugerir, que dicha sustancia actúa sobre el mecanismo de reparación del ADN, y también explicaría por qué Markowitz y colaboradores (24) no lograron demostrar, incremento significativo en la

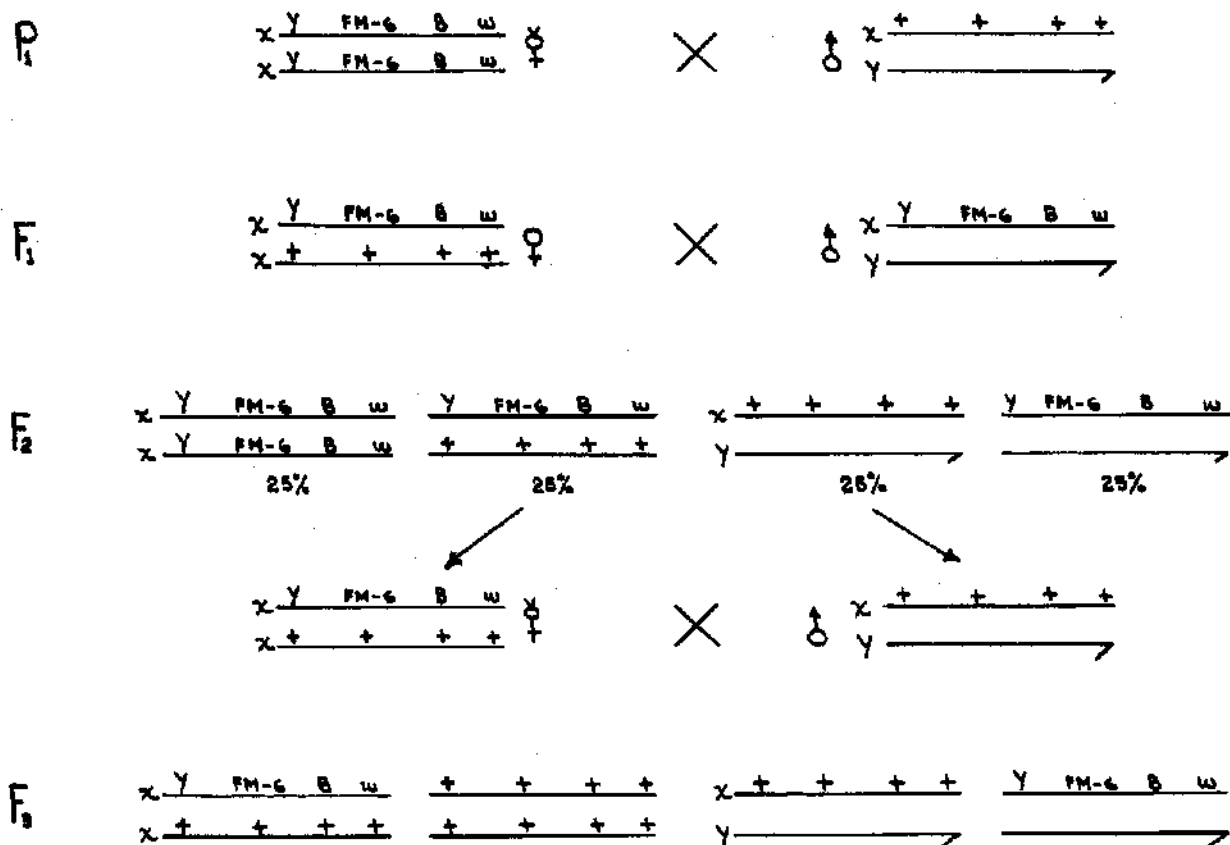


Figura 2.
Elaboración de una copa silvestre de *Drosophila melanogaster* homocigótica para el cromosoma X.

tasa de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo, cuando el tratamiento de los espermatozoides con LSD-25 se hizo en estado larval del macho.

El efecto del LSD-25 sobre la fertilidad de las *Drosophilas*, poco ha sido investigado, pero si se conoce que el tratamiento con la droga en el tercer estadio larval de las hembras disminuye la capacidad de poner huevos (20). En nuestro estudio, el LSD-25, no muestra efecto sobre la ferti-

dad, puesto que la frecuencia de hembras estériles, portadoras del cromosoma X expuesto a la acción de la droga, no es significativamente mayor que la frecuencia de hembras estériles observadas en el control (Tabla I).

En conclusión, el porcentaje de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo es significativamente superior al que presentó el control, y no se observó efecto de esta droga sobre la fertilidad.

TABLA I
FRECUENCIA DE MUTACIONES LETALES RECESIVAS EN EL CROMOSOMA X DE ESPERMATOZOIDES MADUROS DE DROSOPHILA MELANOGASTER DESPUES DE LA EXPOSICION AL LSD-25

Tratamiento	Cromosomas X analizados	Letales recesivos		Significación		Estériles		Significación	
		No.	Frecuencia (n/o)	X ²	P	No.	Frec. (n/o)	X ²	P
Control	1286	1	0,078	4,173	<0,01	22	1,700	1,895	NS
LSD	937	5	0,533			24	2,600		

BIBLIOGRAFIA

- 1 Abrahamson, S., Lewis, E.B. (1971). The detection of mutations in *Drosophila melanogaster*. In: chemical mutagens, edited by Hoffander, A. Plenum Press, New York, pp 461-482.
- 2 Assemany, S. R. New, R. L., Gardner, L.I. (1970) Deformities in child whose mother took LSD. *Lancet* 1:1290.
- 3 Barnett, B.M., Muñoz, E.R. (1971) Genétic effects of LSD in *Drosophila melanogaster* sperm. *Mutation Res.* 11:441-444.
- 4 Bravo, M.L., Zuleta, M. (1976). Efecto de las radiaciones gamma en espermatozoides maduros de *Drosophila melanogaster*. *Actualidades Biológicas.* 5(16)30-35.
- 5 Browning, L.S. (1968) Lysergic acid diethylamide: Mutagenic effects in *Drosophila*. *Science* 161:1022-1023.
- 6 Carrara, F.M., Di Fusco, C. (1978) Chromosomal changes in drug addiction. *Neuropsychiatr.* 62:279-294.
- 7 Chan, C.C., Fishman, M., Egbert, P.R. (1978) Múltiple ocular anomalies associated with maternal LSD ingestion. *Ophthalmol.* 96:282-284.
- 8 COHEN, M.M., Marinello, M.J., Back, N. (1967) Chromosomal damage in human leukocytes induced by lysergic acid diethylamide *Science* 155:1417-1419.
- 9 Cohen, M.M., Hirschhorn, K., Froesch, W.A. (1967) In vivo and in vitro chromosomal damage induced by LSD-25, *N. Engl. J. Med.* 277:1043-1049.
- 10 Cohen, M.M., Hirschhorn, K., Vervo, S., Froesch, W.A., Groeschel, M.M. (1968) The effects of LSD-25 on the chromosomes of children exposed in utero *Pediatr. Res.* 2: 486-492.
- 11 Cohen, M.M. Shiloh, Y. (1977-1978) Genetic toxicology of lysergic acid diethylamide (LSD-25). *Mutation Res.* 47:183-209.
- 12 EGOZCUE, J., Irwin, S. (1969) Effect of LSD-25 on mitotic and meiotic chromosomes of mice and monkeys. *Humangenetik* 8:86-93.
- 13 Fox, P. C., Dray, A. (1979) Iontophoresis of LSD: effects on responses of single cortical neurones to visual stimulation. *Brain Res.* 161:167-172.
- 14 Grace, D., Carlson, E. A., Goodman, P. (1968) *Drosophila melanogaster* treated with LSD: Absence of mutation and chromosome breakage. *Science* 196:694-696.
- 15 Grossbard, L., Rosen, D., McGiluray, E., Capos, A., Miller, O., Bank, A. (1968) Acute leukemia with ph¹ Rike chromosome in LSD user. *J. Am. Med. Ass.* 205: 791-793.
- 16 Hayt, C.S., (1978) Optic disease anomalies and maternal ingestion of LSD. *J. Pediat. Ophth. al. Strabismus* 15: 286-289.
- 17 Hoffmann, A. (1970) les hallucinogenes *Recherche* 1: 239-256.
- 18 Jacobs, B.L., Rulson, M.E. (1979) Mechanisms of action of LSD. *Ann. Sci.* 67:396-404.
- 19 Jeanbart, P., Bernard, M.L. (1971) A propos d' un cas personal de malformations congénitales possiblement due en LSD-25, *Revue de la littérature* (With reference to a personal case of congenital malformations possibly induced by LSD-25, Review of literature) *Univ. Med. Canad.* 100: 919-929.
- 20 Kastritsis, C.P. Jacob-Stocker (1971) Testing of LSD-25 and related compounds for possible effects on egg-Paying capacity and egg-to-adult variability in *Drosophila*. *Experientia*, 27:707-708.
- 21 Lefeure, G. Jr. (1965) The Mutability of mature sperm of *Drosophila melanogaster* irradiated en the female and in the male. *Genetics* 51:381-390.
- 22 Lindsley, D.L., Grell, E. H. (1968) Genetic variations of *Drosophila melanogaster* *Carnegie Inst. Wash. Publ.* N:627.
- 23 Mackenzie, J.B., Stone, G. E. (1968) Chromosomal abnormalities in human leukocytes exposed to LSD-25 in culture *Mammalian Chromosome Nws letter* 9:212-216.
- 24 Markowitz, E.H., Brasseau, G.E. Jr., Markowitz, E. (1966) Genetic effect of LSD treatment on the postmeiotic stages of spermatogenesis in *Drosophila melanogaster* *Mutation Res.* 8:237-342.
- 25 Mrazak, A. S., Huang, C. C. (1979) Qualitative identity of cerebral neuronal membrane actions of 5ht LSD and CPZ *Biol. Psychiatry.* 14:637-644.

- 26 Muñoz, E. R., Barnett, B. M. (1964) Sexlinked recessive lethal test with LSD in *Drosophila melanogaster* sperm. *D.I.S.* 44:54.
- 27 Remington, R. D., Schork, M.A. (1970) *Statistics with Applications to the biological and health Sciences*. ed. Prentice - Hall, Inc. New Jersey (U.S.A.).
- 28 Singh, M.P., Kalia C.S.(1978) LSD Induced chlorophyll mutations in barley *Experientia* 34:1437-1438.
- 29 Sram, R. J. (1971) LSD: Induction of mosaic mutations in spermatozoa of *Drosophila melanogaster*. *Act. Nerv. Super* 13:213-214.
- 30 Tobin, J.N., Tobin, J.M. (1969) Mutagenic effects of LSD-25 in *Drosophila melanogaster*. *Dis. Nerv. Syst.* 30:47-52.
- 31 Vann, E. (1969) Lethal mutation rate in *Drosophila* exposed to LSD-25 by injection and ingestion *Nature (London)* 223:95-96.
- 32 Vann, E., Matlen, C., Rossmoore, H. (1970) Genetic effects of LSD-25 on *E. coli*. *Mutation Res.* 10:269-275.