



SEMA2000

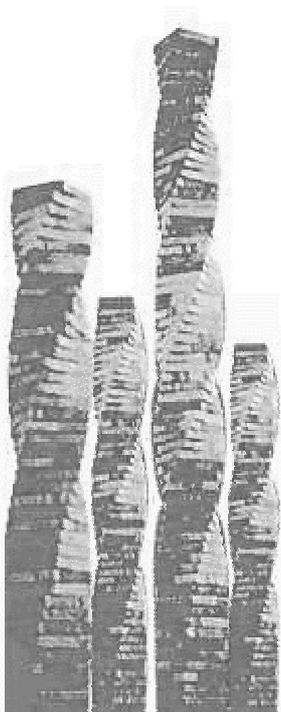
**X^a REUNIÓN CIENTÍFICA DE
LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MUTAGÉNESIS AMBIENTAL**

BELLATERRA, 5-7 / JULIO / 2000

Programa y resúmenes



**Universitat
Autònoma
de Barcelona**



SEMA2000

**X^a REUNIÓN CIENTÍFICA DE
LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MUTAGÉNESIS AMBIENTAL**

BELLATERRA, 5-7 / JULIO /2000

Organizada por el *Grup de Mutagènesi* (*Departament de Genètica i de Microbiologia*) de la *Universitat Autònoma de Barcelona*

ÍNDICE

PROGRAMA.....	1
RESÚMENES DE CONFERENCIAS	13
RESÚMENES DE COMUNICACIONES	19
ÍNDICE DE AUTORES	125
DIRECTORIO DE PARTICIPANTES	131

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente	Dr. Ricardo Marcos
Vocal	Dr. Oriol Cabré
Vocal	Dr. Amadeu Creus
Vocal	Dra. Antonia Velázquez
Tesorero	Dr. Jordi Surrallés
Secretario	Dr. Noel Xamena

COMITÉ CIENTÍFICO

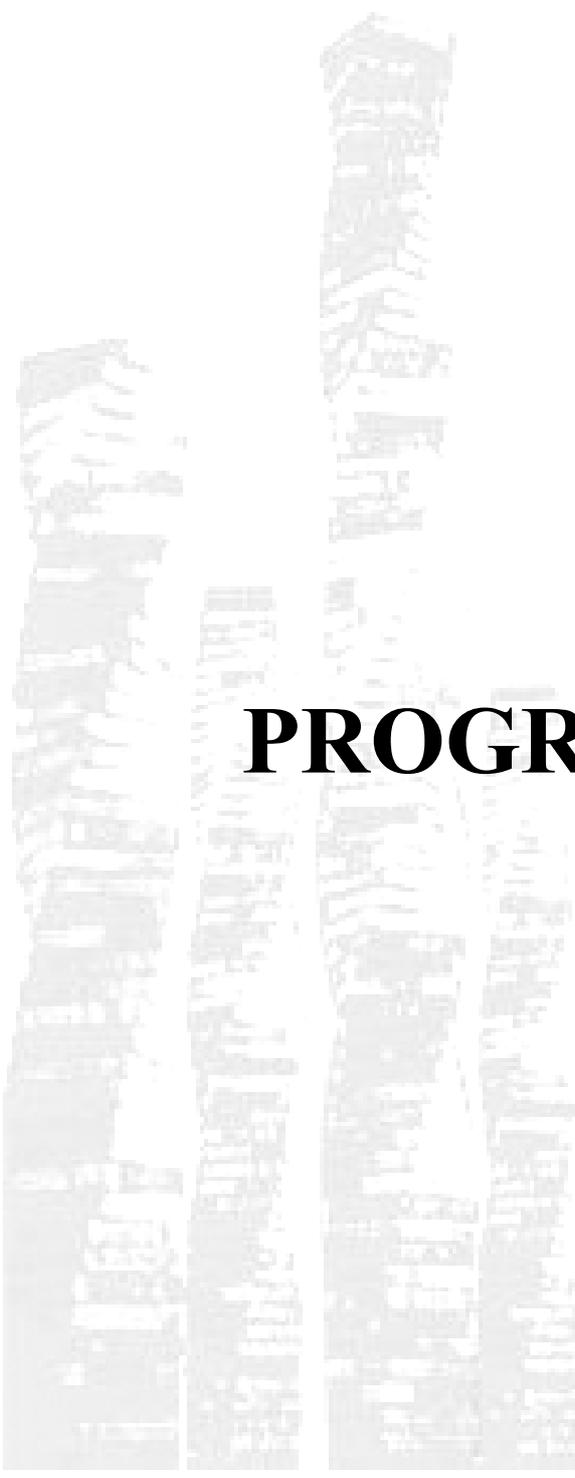
Dr. Ricardo Marcos (*Universitat Autònoma de Barcelona*)
Dra. Carmen Pueyo (Universidad de Córdoba)
Dr. Amadeu Creus (*Universitat Autònoma de Barcelona*)
Dr. Eduardo de la Peña (CSIC, Madrid)
Dr. Felipe Cortés (Universidad de Sevilla)
Dra. Luisa María Sierra (Universidad de Oviedo)
Dr. Joaquín Piñero (Universidad de Sevilla)
Dra. Carmen Barrueco (Instituto de Salud Carlos III)

ORGANISMOS Y ENTIDADES COLABORADORAS

CIRIT, *Generalitat de Catalunya*
Universitat Autònoma de Barcelona
BioAnalysis Labsystems S.A.
VITA-INVEST, S.A.

SEDE DE LA REUNIÓN

Sala de Actos de la Facultad de Ciencias de la *Universitat Autònoma de Barcelona*.
Campus de Bellaterra (*Cerdanyola del Vallès*)



PROGRAMA

PROGRAMA

Miércoles día 5

- 09:00-09:45 Entrega de documentación
- 09:45-10:00 Inauguración del Congreso
- 10:00-11:00 Conferencia inaugural
Mechanisms of formation of chromosome aberrations
Dr. A.T. Natarajan
University of Leiden (Holanda)
- 11:00-11:30 Café
- SESIÓN 1. Moderadores:**
Dr. A. Creus, Universitat Autònoma de Barcelona
Dr. C. Paz y Miño, Pontificia Universidad Católica del Ecuador
- 11:30-12:00 **Inestabilidad genética y progresión tumoral**
L. Masramon, M. Ribas, R.A. Risques, R. Miró y M.A. Peinado
Hospital Duran i Reynals/Universitat Autònoma de Barcelona
- 12:00-12:30 **Concentraciones en suero de compuestos organoclorados y mutaciones en el gen K-ras en el cáncer de páncreas exocrino**
M. Porta
Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Universitat Autònoma de Barcelona
- 12:30-12:45 **Antecedentes de exposición laboral y mutación en el gen K-ras en el cáncer de páncreas exocrino. Un análisis caso-caso**
J. Alguacil, M. Porta, N. Malats, M. Kogevinas, F.G. Benavides, T. Kauppinen, T. Partanen, L. Ruiz, A. Carrato, J. Rifà, L. Guarner y F.X. Real
IMIM/Universitat Autònoma de Barcelona/Universitat Pompeu Fabra/ Finnish Institute of Occupational Health/H. General de Elche/H. Son Dureta/H. Vall d'Hebron

- 12:45-13:00 **Inducción de la inestabilidad de las repeticiones de trinucleótidos CTG, asociados con la distrofia miotónica, en líneas celulares deficientes en reparación *mismatch***
L. Fernández, E. Piñeiro, R. Marcos, A. Velázquez y J. Surrallés
Universitat Autònoma de Barcelona
- 13:00-13:15 **El enfoque químico en el uso de cultivos celulares en toxicología de metales**
S. Fortaner, R. Pietra, P. Catalani, E. Sabbioni, M. Balls y M. Fischbach
EC, IHCP, ECVAM, JRC / Biotechnology Consulting Services (Italia)
- 13:15-13:30 **Test development for in vitro testing of metal toxicity and carcinogenicity: the BALB/3T3 assay**
F. Mazzotti, B. Cocco, M. Ghiani, R. Ceccatelli, S. Fortaner y E. Sabbioni
EC, IHCP, ECVAM, JRC (Italia)
- 13:30-14:45 Comida
- SESIÓN 2.** **Moderadores:**
Dr. E. de la Peña, CSIC, Madrid
Dr. P. León, Universidad de Costa Rica
- 14:45-15:15 **Relación entre heterogeneidad intragenómica e inestabilidad cromosómica**
J. Surrallés, S. Puerto, M.J. Ramírez, A. Creus y R. Marcos
Universitat Autònoma de Barcelona
- 15:15-15:30 **Estudio citogenético mediante FISH de una población control y de otra ocupacionalmente expuesta a radiaciones ionizantes**
S. Cigarrán, J.F. Barquinero, L. Barrios, M. Ribas, J. Egozcue y M. R. Caballín
Universitat Autònoma de Barcelona/Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

- 15:30-15:45 **Valoración de la eficacia de las técnicas de FISH para la detección de irradiaciones parciales**
A. Duran, J. F. Barquinero, M. Ribas, J. Egozcue, M.R. Caballín y L. Barrios
Universitat Autònoma de Barcelona/Hospital de la Santa Creu i Sant Pau
- 15:45-16:00 **Efecto citogénético de la afidicolina en individuos ocupacionalmente expuestos a bajas dosis de rayos X y relación con el gen reparador *hMSH2***
C. Paz y Miño, C. Pérez, M.V. Dávalos, F. Fiallo, M.E. Sánchez y P.E. Leone
Pontificia Universidad Católica del Ecuador
- 16:00-16:15 **Análisis de la inducción y persistencia de las alteraciones cromosómicas generadas por el ¹³¹I en pacientes de cáncer de tiroides e hipertiroidismo, mediante técnicas de citogenética molecular**
S. Puerto, M.J. Ramírez, R. Marcos, A. Creus, P. Galofré y J. Surrallés
Universitat Autònoma de Barcelona/Hospital Universitari Vall d'Hebron
- 16:15-16:45 Café
- SESIÓN 3.** **Moderadores:**
Dra. I. Arrieta, Universidad del País Vasco
Dr. W. Venegas, Universidad de Concepción (Chile)
- 16:45-17:15 **La radiación no ionizante procedente de campos electromagnéticos, ¿es genotóxica? Revisión epidemiológica e hipótesis**
J.M. García Sagredo, C. Villalón, M.C. Sánchez Hombre y M.T. Ferro
Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid

- 17:15-17:30 **Inducción de micronúcleos *in vivo* por un campo electromagnético de 200 microteslas**
M. Alcaraz, R. Martín-Gil, C. Acevedo, J. Margineda, P. Campos y M. Canteras
Universidad de Murcia
- 17:30-17:45 **Influencia del arabinósido de citosina (ara-C) sobre la formación de micronúcleos inducidos por la terapia con yodo-131**
S. Gutiérrez, E. Carbonell, P. Galofré, A. Creus y R. Marcos,
Universitat Autònoma de Barcelona/Hospital Universitari Vall d'Hebron
- 17:45-18:00 **Radioprotección de diferentes extractos polifenólicos frente al daño cromosómico *in vivo* inducido por radiación ionizante**
M. Alcaraz, J. Castillo, O. Benavente-García, J. Lorente, A. Redondo, V. Vicente y M. Canteras
Universidad de Murcia/Furfural Español S.A.
- 18:00-18:15 **Análisis de no-disyunción y pérdida anafásica en linfocitos humanos irradiados utilizando sondas centroméricas específicas**
I. Ponsa, J.F. Barquinero, R. Miró, J. Egozcue y A. Genescà
Universitat Autònoma de Barcelona
- 18:15-18:30 **Secuencia de separación del centrómero: alteración epigenética inducida por la 5-azacitidina**
M.J. Rodríguez, M.A. López, A. García-Orad y B.K. Vig
Universidad del País Vasco/University of Nevada (USA)
- 18:30-18:45 **Diferencias en la separación y replicación de los centrómeros inactivos frente a los activos**
A. García-Orad, B.K. Vig y D. Auncoïn
Universidad del País Vasco/University of Nevada (USA)

Jueves día 6

SESIÓN 4.

Moderadores:

Dr. J. Piñero, Universidad de Sevilla

Dr. N. Xamena, Universitat Autònoma de Barcelona

09:00-09:30

Experiencia en estudios de genotoxicidad en Ecuador

C. Paz y Miño

Pontificia Universidad Católica de Ecuador

09:30-09:45

Estudio del riesgo genético en trabajadores ocupacionalmente expuestos a pentaclorofenol en Chile

W. Venegas, S. Poblete e I. Rudolff

Universidad de Concepción/Mutual de Seguridad Cámara Chilena de la Construcción

09:45-10:00

Evaluación del daño genético inducido por la exposición laboral a pesticidas

S. Pastor, L. Lucero, A. Creus y R. Marcos

Universitat Autònoma de Barcelona

10:00-10:15

Estudio genotóxico de dos fármacos antihipertensivos con distinto mecanismo de acción

M. Télez, B. Martínez, B. Criado, O. Peñagarikano, B. Ortega, P. Flores, E. Ortiz-Lastra e I. Arrieta

Universidad del País Vasco/Instituto Portugués de Oncología/Centro de Salud Albia

10:15-10:30

Genotoxic evaluation of 1-(5-bromofur-2-yl)-2-bromo-2-nitroethene (G-1), a novel antimicrobial agent

J. Xu, K. Farrar, M.T. Nguyen, W. Puig, K. Shore, J. Kamal, N. Carballo, G. Pérez, A. Remigio, N. Fernández, A. Acebo, D. Carnesoltas, Y. Rivero, N. Contreras, G. Pérez, J. González y O. Sainz Sitek Research Laboratories/CENPALAB /UCLV /ISCM

10:30-10:45

Estudios genotóxicos *in vivo* de 6 extractos de plantas medicinales en células de la médula ósea de roedores

A.C. Remigio, G. Pérez, N. Fernández y Y. Rivero

CENPALAB (Cuba)

- 10:45-11:00 **Tamizaje genotóxico del 1-(5-bromofur-2-il)-2-bromo-2-nitroeteno a través de ensayos en células somáticas y germinales**
N. Carballo, A.C. Remigio, G. Pérez, N. Fernández y Y. Rivero
CENPALAB (Cuba)
- 11:00-11:30 Café
- 11:30-11:45 **Efecto radioprotector de un extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* HBK en células de *Escherichia coli***
J.L. Fuentes, A. Alonso, A. Sánchez-Lamar, E. Almeida, S. Carro E. Prieto y M. Llagostera
Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear/Universidad de La Habana/Universitat Autònoma de Barcelona
- 11:45-12:00 **Estudio del efecto genotóxico de un extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* HBK utilizando ensayos *in vitro* e *in vivo***
A. Sánchez-Lamar, J.L. Fuentes, G. Fonseca, A. Alonzo, N. Cápiro, D. Moreno, M. Ferrer, L. Baluja, M. Fiore, R. De Salvia, R. Cozzi y M. Llagostera
Universidad de La Habana/CEADEN(Cuba)/Università degli Studi "Roma Tre"/Universitat Autònoma de Barcelona
- 12:00-13:00 Conferencia invitada
Moderador:
Dr. Jordi Surrallés, Universitat Autònoma de Barcelona

Genetic polymorphisms and individual susceptibility to genotoxins
Dr. H. Norppa
Finnish Institute of Occupational Health (Finlandia)
- 13:00-13:30 ***Perspectives in research on metal toxicity and carcinogenicity by in vitro advanced methods (cell cultures)***
E. Sabbioni, S. Fortaner, R. Pietra y M. Balls
EC, IHCP, ECVAM, JRC (Italia)
- 13:30-14:30 Comida

- SESIÓN 5. Moderadores:**
Dra. C. Barrueco, Instituto de Salud Carlos III
Dr. O. Cabré, Universidad Autònoma de Barcelona
- 14:30-15:00 **Efecto de la ligasa de T4 en la reunión de roturas de cadenas de ADN inducidas por radiación ionizante: estudio comparativo entre PFGE y ensayo del cometa**
A. Edreira, T. Ortiz, J. Piñero, S. Navas y I. Valle
Universidad de Sevilla
- 15:00-15:15 **Detección de alteraciones citogenéticas, mediante citometría de flujo, en poblaciones naturales de carpas**
M.T. Llorente, C. Becerril y A. Castaño
CISA-INIA/Instituto de Salud Carlos III, Madrid
- 15:15-15:30 **Utilización de la técnica de RAPDs en estudios de ecotoxicología: biodiversidad y genotoxicidad**
C. Becerril y A. Castaño
Instituto de Salud Carlos III/CISA-INIA, Madrid
- 15:30-15:45 **Aplicación del test de Ames y del ensayo de micronúcleos en linfocitos humanos en el estudio genotóxico del Bisfenol F diglicidil éter (BFDGE)**
S. Suárez, R.A. Sueiro, M. Araujo y M.J. Garrido
Universidade de Santiago de Compostela
- 15:45-16:00 **Evaluación genotóxica del derivado furiletilénico 2-furil-1-nitroeteno en cultivos de linfocitos humanos**
J. González, A. Creus y R. Marcos
Universitat Autònoma de Barcelona
- 16:00-16:45 **Asamblea General de la SEMA**
- 16:45 **Visita a las Bodegas Torres**
Cena en el Restaurante Can Amat

Viernes día 7

SESIÓN 6.

Moderadores:

Dra. E. Alexandre-Durán, Universidad de Córdoba

Dr. M.A. Comendador, Universidad de Oviedo

09:00-09:30

Aproximaciones al estudio *in vivo* de mecanismos de acción de agentes genotóxicos: utilidad de *Drosophila*

L.M. Sierra, L. Tosal., L. Álvarez, N. Díaz-Valdés, J.

Hernando y M.A. Comendador

Universidad de Oviedo

09:30-09:45

Genotoxicidad del cromo y su modulación por el selenio, en el ensayo SMART de alas, en *Drosophila*

M. Rizki, S. Amrani, A. Creus y R. Marcos

Universitat Autònoma de Barcelona

09:45-10:00

Estudios de genotoxicidad de varios aceites de consumo humano en *Drosophila melanogaster*

M.M. Rojas Molina, J. Campos y A. Alonso

Universidad de Córdoba

10:00-10:15

Mutagenicidad y espectro molecular de mutación inducido por dietilsulfato (DES) en células postmeióticas masculinas de *Drosophila melanogaster* en condiciones *mus308*

N. Díaz-Valdés, M.A. Comendador y L.M. Sierra

Universidad de Oviedo

10:15-10:30

Mutagenicidad inducida por dietilsulfato en células germinales femeninas de *Drosophila melanogaster* en condiciones normales y deficientes de reparación *mus308*

J. Hernando, M.A. Comendador y L.M. Sierra

Universidad de Oviedo

10:30-10:45

Mutagenicidad inducida por ENU en células germinales femeninas de la línea *mus308* de *D. melanogaster*

L. Álvarez, L.M. Sierra y M.A. Comendador

Universidad de Oviedo

- 10:45-11:00 **Efecto de la decoción de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. en la mutagenicidad de agentes alquilantes**
N. Cápiro, A. Sánchez Lamar, G. Fonseca, L. Baluja, J. Fuentes y M.E. de la Rosa
Universidad de La Habana/UNAM (México)
- 11:00-11:30 Café
- 11:30-12:30 Conferencia invitada
Moderador:
Dra. C. Pueyo, Universidad de Córdoba
- Sequence of centromere separation and aneuploidy***
Dr. B.K. Vig
University of Nevada (USA)
- 12:30-13:00 **El problema de la detección de la mutagénesis inducida por estrés oxidativo: su solución, a partir de una hipótesis errónea**
M. Blanco
FVIB, Valencia
- 13:00-14:30 Comida
- SESIÓN 7.** **Moderadores:**
Dra. M. Llagostera, Universitat Autònoma de Barcelona
Dr. J.L. Fuentes, CEADEN, La Habana
- 14:30-14:45 **Cuantificación de la transcripción *in vivo* mediante RT-PCR múltiple**
M. Manchado, C. Michán y C. Pueyo
Universidad de Córdoba
- 14:45-15:00 **Inducción del regulón SoxR/S mediante H₂O₂ en *E. coli***
C. Michán, M. Manchado y C. Pueyo
Universidad de Córdoba

- 15:00-15:15 **Los sistemas glutarredoxina y tiorredoxina desempeñan un papel clave en el control transcripcional de la respuesta adaptativa frente a estrés oxidativo**
M.J. Prieto-Álamo, J. Jurado, R. Gallardo-Madueño, F. Monje-Casas y C. Pueyo
Universidad de Córdoba
- 15:15-15:30 **Detección de mutágenos oxidativos con el WP2 Mutoxitest, un ensayo basado en la nueva cepa de *Escherichia coli* IC203, deficiente en la función OxyR**
M. Blanco, A. Martínez y A. Urios
FVIB, Valencia
- 15:30-15:45 **Rápida detección de compuestos mutagénicos directos en *Salmonella typhimurim* TA100 aplicando una técnica de impedancia eléctrica**
L. García, R.A. Sueiro y M.J. Garrido
Universidade de Santiago de Compostela
- 15:45-16:00 **Estudio de la antimutagénesis de un extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* en células de *Salmonella typhimurium***
M. Ferrer, J.L.Fuentes, A. Sánchez-Lamar, G. Fonseca, M. Llagostera
Universitat Autònoma de Barcelona/Universidad de La Habana/ CEADEN
- 16:00-16:30 Café
- SESIÓN 8.** **Moderadores:**
Dra. M. Sierra, Universidad de Oviedo
Dra. A. Velázquez, Universitat Autònoma de Barcelona
- 16:30-16:45 **Aislamiento, expresión y caracterización funcional de AtNTH1: un homólogo de la enzima reparadora endonucleasa III en la planta *Arabidopsis thaliana***
T. Roldán-Arjona, M.V. García-Ortiz, M. Ruiz-Rubio y R.R. Ariza
Universidad de Córdoba

- 16:45-17:00 **Identificación y aislamiento del gen que codifica la fotoliasa de *Fusarium oxysporum***
E. Alejandro-Durán, R.R. Ariza, T. Roldán-Arjona, M.D. Huertas-González y M. Ruiz-Rubio
Universidad de Córdoba
- 17:00-17:15 **Mecanismos de tolerancia a lesiones en plantas: identificación y caracterización de un homólogo vegetal de la ADN polimerasa Pol η**
E. Alejandro-Durán y R.R. Ariza
Universidad de Córdoba
- 17:15-17:30 ***Arabidopsis thaliana* posee un homólogo estructural y funcional de la enzima 8-oxoguanina-ADN glicosilasa (AtOGG1)**
M.V. García-Ortiz, R.R. Ariza y T. Roldán-Arjona
Universidad de Córdoba
- 17:30-17:45 **Estudio de la mutación por inserción del elemento transponible FB-NOF en la región 3' del gen *white* de *Drosophila melanogaster* y su efecto en la interacción *zeste-white***
M. Badal, N. Xamena y O. Cabré
Universitat Autònoma de Barcelona
- 17:45-18:00 **Efectos de la densidad larvaria y de la temperatura en el mutante insercional *white-buff* de *Drosophila melanogaster***
M. Rey, A. Velázquez y N. Xamena
Universitat Autònoma de Barcelona
- 18:00 **Acto de clausura**

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000



RESÚMENES DE CONFERENCIAS

Mechanisms of formation of chromosome aberrations

A. T. Natarajan

Department of Radiation Genetics & Chemical Mutagenesis, Leiden University, The Netherlands

Ionising radiation is very efficient inducing structural chromosome aberrations in eukaryotic cells both in vivo and in vitro. Fluorescence in situ hybridisation (FISH) technique using chromosome, chromosome arm, chromosome region, centromere and telomere specific DNA probes has improved the resolution of detecting all classes of radiation induced chromosomal inter- and intra-changes. Recently obtained data from our laboratory indicate that (a) the frequencies of induced aberrations have been underestimated and (b) there exists inter- and intra- chromosomal heterogeneity for involvement in aberration formation. Combination of premature chromosome condensation technique with FISH has given new insights into the kinetics of formation of different classes of aberrations following exposure to low and high LET radiations. The status of condensation of chromosomes, the proximity of chromosomal regions in interphase nucleus at the time of irradiation seem to influence the types and frequencies of radiation induced exchange aberrations. Among the two major repair pathways involved in the repair of radiation induced DNA double strand breaks, non-homologous end rejoining is more involved than homologous recombination in the formation of chromosomal aberrations.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Genetic polymorphisms and individual susceptibility to genotoxins

H. Norppa

Finnish Institute of Occupational Health, Topeliuksenkatu 41 a A, FIN-00250 Helsinki, Finland

Susceptibility to genotoxic exposure varies among individuals, due to acquired or inherited characteristics. During the last few years, increasing attention has been focused on genetic polymorphisms that could modulate human response to genotoxic insult. In principle, any polymorphisms that affect xenobiotic metabolism or cellular response to DNA damage could alter individual sensitivity to genotoxins. Most studies on this topic have addressed the question whether a particular genotype of a xenobiotic-metabolizing enzyme is over-represented among cancer patients. Such investigations require a high number of cases and controls, and relationship to past exposure is often difficult to establish due to insufficient information and the long time that has elapsed between the exposure and the disease. Another approach is to examine the influence of genetic polymorphism on biomarkers of genotoxic exposure or effect, comparing biomarker levels in different genotype groups. The association between exposure and biomarker response is then not obscured by a long latency period, and reasonable information on exposure levels can be obtained. This may facilitate the identification of risk groups and increase the sensitivity of the biomarkers in biomonitoring. The available studies have revealed a higher level of DNA adducts and chromosome damage in lymphocytes of tobacco smokers and other individuals exposed to polyaromatic hydrocarbons, who lack glutathione *S*-transferase M1 (GSTM1) due to a homozygous deletion (null genotype) affecting the *GSTM1* gene. GSTM1 is an important detoxification enzyme which is commonly (50% of Caucasians) lacking in the human population. Other polymorphic glutathione *S*-transferases include GSTM3, GSTP1, and GSTT1. The *GSTT1* null genotype (10-20% of Caucasians) has been associated with an increased "baseline" level of sister chromatid exchanges in lymphocytes, possibly reflecting an interaction between the genotype and some common endogenous or exogenous exposure. *N*-acetyltransferase 2 (NAT2), metabolizing xenobiotics with primary aromatic amine and hydrazine structures, is another important polymorphic phase II enzyme; the various genotypes denote either fast or slow acetylation capacity. Subjects having the *NAT2* slow acetylator genotype appear to show an increased baseline frequency of lymphocyte chromosomal aberrations in the absence of identified environmental exposure; the reason for this association remains unclear. Genetic polymorphism also affects a number of other xenobiotic-metabolizing enzymes, such as NAT1, microsomal epoxide hydrolase, sulphotransferase, and various cytochrome P-450 isozymes (CYP2D6, CYP1A1, CYP2A6, CYP2C9, CYP2C19, and CYP2E1). Besides human biomonitoring studies, genetic polymorphisms may be important in explaining individual variation in genotoxic response observed in genetic toxicology tests using human cells. This question has not extensively been studied, and it is not well understood which enzymes are expressed at high enough levels e.g. in cultured human lymphocytes, to be able to affect test results. However, several studies have suggested that blood cultures from *GSTT1* null and *GSTM1* null individuals have increased *in vitro* sensitivity to various genotoxins. The

best-known example is probably the diepoxybutane sensitivity of *GSTT1* null donors. In conclusion, some genetic polymorphism of xenobiotic-metabolizing enzymes appear to influence the level of genotoxic damage in exposed humans, while others seem to affect the "baseline" level of such damage. The genetic polymorphisms potentially important for a particular endpoint largely depend on the exposing agent and biological material examined. The frequencies of variant alleles may grossly differ among various ethnic groups, and the importance of various polymorphisms may vary accordingly. As there is individual variation also in the extent and nature of the exposure, correct identification of the exposure groups is essential. In the near future, new information will be obtained on polymorphisms affecting DNA repair and genome integrity which are probably of special importance in modulating genotoxic effects. Understanding the influence of genetic polymorphisms on genotoxic response is expected to improve the applicability of genotoxicity assays in biomonitoring and testing.

NOTAS:

Sequence of centromere separation and aneuploidy

Africa García-Orad¹, María José Rodríguez¹ and Baldev K Vig²

¹Universidad del País Vasco, Bilbao, Spain and ² University of Nevada, Reno, NV, USA

Whereas the centromere region, along with the rest of the chromosome, replicates during the S phase, the centromeres are the last vestiges to split into two distinct units. It is not understood why the centromeres are the last unit to separate along the length of the chromosome; none-the-less, this phenomenon is crucial for maintaining euploidy. A host of proteins, like the CENPs, the adhesins, cohesins, dyneins and dynactins, present at the centromere site might perform some function in the structure and function of the centromere. However, every one of these is present as twin dots at the sites of the unsplit centromeres.

We reasoned that “maturation” of the centromere, i.e., its preparation to split into two units, might reflect the timing of DNA synthesis in this region. This idea is supported by the fact that inactive centromeres split into two sub-units at pro-metaphase and, also, replicate in early S. Since in mouse centromere separation is delayed with increasing quantity of pericentric heterochromatin, we expected the heterochromatin to complete its replication in correspondence with its quantity. However, we found no such correlation; several larger blocks complete their replication ahead of smaller blocks. The human cells also exhibited this characteristics in that the late separating acrocentrics do not necessarily replicate later than non-acrocentrics.

If timing of DNA replication is not a factor, then a specific physical state of the pericentric heterochromatin might play a role in control of centromere separation. An alternative to the compact physical state is decondensed heterochromatin. We achieved this by treating mouse cells with a derivative of bis-benzimidazole, Hoechst 33258, and a demethylating agent, 5-azacytidine. Both agents were effective in causing alterations in the sequence of centromere separation, This effect was most pronounced in chromosomes with larger quantity of heterochromatin. As expected, the chromosomes which did not have minimal quantity of heterochromatin were not affected. This would mean that the physical state of pericentric heterochromatin in mouse plays a role in the sequence of centromere separation. Similar results were obtained for 5-azacytidine treated human cells in which acrocentric and non-acrocentric chromosomes separated randomly in contrast to the untreated cells in which the acrocentrics separate the last.

Alteration in the physical state of heterochromatin and, hence, alterations in the sequence of centromere separation, should result in aneuploidy. These experiments could not be carried out with mouse since the chromosome number in tissue culture varies greatly. However, when we treated the Indian muntjac cells with 5-azacytidine or Hoechst, we observed a significant increase in the frequency of aneuploid cells involving, primarily, the Y₂ chromosome.

We are using MDA435 cells with a green fluorescence gene inserted into the HP1 segment for analyzing the formation of centromere positive and centromere negative micronuclei without staining with the antibodies present in the CREST serum. When these cells are treated with CREST serum and tagged with secondary antibody labeled

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

with rhodamine, the green fluorescent HP and the red kinetochore dots can be seen in tandem. However, this is possible only in a few human chromosomes which have large heterochromatic blocks, viz., chromosome number 1, 9 and 16. Should there be a heterochromatin block present without the accompanying rhodamine label, it could mean that the chromosome has a break in the vicinity of the centromere.

These studies shall be discussed in relation to induction of aneuploidy.

NOTAS:



RESÚMENES DE COMUNICACIONES

Genetic instability and tumor progression

Laia Masramon¹, Maria Ribas², Rosa-Ana Risques¹, Rosa Miró², Miguel A. Peinado¹

¹Institut de Recerca Oncològica, Hospital Duran i Reynals, 08907 L'Hospitalet, Barcelona

²Dept. de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Fac. de Medicina, Univ. Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona

Genomic damage is a hallmark of neoplastic cells and usually appears related to tumor progression and malignant potential. Distinctive patterns of genetic disruption have been also defined and associated with clinicopathological features of the tumors. The detection and characterization of genomic damage as an outcome of a genetic instability in several types of cancer cells has lived up the role of genetic instability as the molecular engine of tumor progression. Chromosomal instability is believed to be involved in most of colorectal cancers and has been postulated to appear in two major forms: (i) losses and gains affecting entire chromosomes and (ii) intrachromosomal instability resulting in subchromosomal imbalances and other structural rearrangements.

In order to determine the type and degree of chromosomal genetic instability in cancer cells we have analyzed in a comprehensive manner (G-banding Cytogenetics, Comparative Genomic Hybridization and DNA fingerprinting) the genetic divergence sustained in clonal derivatives of three colon cancer cell lines (SW480, HCT116 and LoVo). Genetic divergence was manifested as chromosomal structural rearrangements with almost null numerical variations. The three cell lines displayed distinct levels of structural mutations. At subchromosomal level a high level of imbalances was observed and partially associated with the rate of structural aberrations. Subchromosomal imbalances also contributed to support genetic divergence. Our results suggest that the three cell systems investigated sustain chromosomal instability in the form of reorganizations rather than numerical. Alterations may be consequence of unrepaired structural rearrangements rather than mitotic spindle defects. Numerical aberrations are likely to be under strong selection pressures precluding a higher frequency. The aneuploid cell line SW480 presented the highest rates of chromosomal alterations and generation of *de novo* genetic heterogeneity was promoted in derivated clones in regard to the parental cells.

Acknowledgements: This work was supported by grants from CICYT, FIS, and Fundació La Marató de TV3. L. M. was a fellow of AECC. R.-A. R. was a fellow of CIRIT.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Concentraciones en suero de compuestos organoclorados y mutaciones en el gen *K-ras* en el cáncer de páncreas exocrino

M. Porta*, N. Malats, M. Jarrod, J. Alguacil, A. Carrato, J. Rifà, L. Guarner, J.M. Corominas, M. Andreu, A. Salas, J. Grimalt y F.X. Real (Estudio PANKRAS II)

*I.M.I.M. / U.A.B., Carrer del Dr. Aiguader 80, 08003 - Barcelona. mporta@imim.es

Algunos compuestos organoclorados [COs] como el DDT (2,2-bis(p-clorofenil)1,1,1-tricloroetano), el DDE (2,2-bis(p-clorofenil)1,1-dicloroetileno) y ciertos PCBs son carcinógenos en animales y probablemente también en humanos. La exposición laboral al DDT se ha asociado al riesgo de cáncer de páncreas exocrino (CPE). Se desconocen las razones de la alta prevalencia de mutaciones en el gen *K-ras* en el CPE. El objetivo fue analizar la relación entre niveles séricos de COs y mutaciones en el codon 12 del gen *K-ras* en el CPE.

De entre los pacientes incluidos en el Estudio PANKRAS II se seleccionaron 17 casos de CPE sin la mutación y se emparejaron por edad y sexo con 34 casos de CPE mutados (análisis caso-caso). Los 51 casos de CPE se compararon a su vez con 26 controles hospitalarios convencionales (análisis caso-control). Los COs se analizaron por cromatografía de gases y espectrometría de masas. En los análisis multivariantes se utilizó regresión logística condicional y no condicional.

Los niveles de p,p'-DDT fueron significativamente superiores en los casos de CPE mutados que en los casos no mutados; la probabilidad relativa o razón de odds [RO] de presentar una mutación para el tercil superior de p,p'-DDT fue 8·7 (IC 95%: 1·6-48·5), p de tendencia: 0·005. Para el p,p'-DDE las correspondientes cifras fueron 5·3 (1·1-25·2) y 0·031. La magnitud y significación de estos estimadores se mantuvo al ajustar por lípidos, otras covariables y PCBs totales. Se observó además una asociación específica entre la sustitución Gly→Val en el codon 12 y los niveles de p,p'-DDT y de p,p'-DDE (RO: 15·9, p: 0·044, y RO: 24·1, p: 0·028, respectivamente). Las probabilidades de mutación para los 3 PCBs predominantes (congéneres 138, 153 y 180) fueron asimismo significativas, incluso tras ajustar por p,p'-DDE y otras covariables; en los PCBs no hubo asociación con el espectro. Los niveles de los 5 COs mencionados fueron similares en los casos no mutados y en los controles. En cambio, fueron significativamente inferiores en ambos grupos que en los casos mutados.

Es la primera vez que una mutación en un oncogén se relaciona con la dosis interna de COs en seres humanos que viven en condiciones normales. Ciertos COs podrían estar implicados en la etiopatogenia del CPE modulando la activación del gen *K-ras*. Elucidar posibles mecanismos necesitará de nuevos estudios biológicos, clínicos y epidemiológicos, pero la refutación o replicación de los hallazgos con el enfoque epidemiológico-molecular es prioritaria.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Antecedentes de exposición laboral y mutación en el gen *K-ras* en el cáncer de páncreas exocrino. Un análisis caso-caso

J Alguacil¹, M Porta*^{1,2}, N Malats¹, M Kogevinas^{1,2}, FG Benavides^{1,3}, T Kauppinen⁴, T Partanen⁴, L Ruiz¹, A Carrato⁵, J Rifà⁶, L Guarner⁷, FX Real^{1,3}

¹Institut Municipal d'Investigació Mèdica, ²Universitat Autònoma de Barcelona, ³Universitat Pompeu Fabra (Barcelona), ⁴Finnish Institute of Occupational Health (Helsinki, Finlandia), ⁵H General de Elche, ⁶H Son Dureta (Mallorca), ⁷H Vall d'Hebron (Barcelona)

*Correspondencia: Miquel Porta, GR Epidemiologia del Càncer, IMIM / UAB, C/ Dr Aiguader 80, 08003 Barcelona. Tel: +34 932211009. FAX: +34 932213237. Correo-e: mporta@imim.es

Antecedentes. Diez años después de que se descubriese la alta prevalencia de mutaciones en el gen *K-ras* (75-85%) en el cáncer de páncreas exocrino (CPE), desconocemos si este hecho se asocia a procesos clínicos, ambientales o de otra índole, a pesar de que los genes *ras* son dianas en diversos procesos de carcinogénesis química. Agentes presentes en el ambiente laboral han inducido neoplasias con alteraciones en *ras* en animales. Varias exposiciones laborales se han asociado a un mayor riesgo de CPE. El objetivo fue analizar la relación entre antecedentes de exposición laboral y la mutación en *K-ras* en pacientes con CPE.

Pacientes y Métodos. El estudio PANKRAS II reclutó prospectivamente 185 pacientes diagnosticados de CPE. Este trabajo se basa en los 107 pacientes en cuyo material histológico se pudo analizar la presencia de mutaciones en el gen *K-ras* y para los que, además, se disponía de información sobre dieta, consumo de tabaco, alcohol y café, y factores clínicos, socio-demográficos y laborales. Se evaluó la exposición laboral a 22 agentes químicos, dos físicos, y uno ergonómico mediante una matriz de exposición laboral (FINJEM). Se compararon las exposiciones laborales entre los pacientes con CPE mutado y los pacientes con CPE no mutado (análisis caso-caso). El estimador de riesgo fue la razón de odds (OR) ajustada, calculada mediante regresión logística no condicional.

Resultados. La prevalencia de la mutación fue del 78% (83/107). Se observaron riesgos estadísticamente significativos del orden de 6 veces o más entre aquellos trabajadores expuestos a cada uno de los diferentes tipos de disolventes evaluados: alifáticos y alicíclicos (OR 6,4; IC95% 1,1-122), aromáticos (OR 7,4; 1,3-139), clorados (OR 14,8; 3,4-Incuantificable), y otros disolventes orgánicos, así como para gasolina. Los casos mutados también estuvieron expuestos al menos 4 veces más a benzo[a]pireno (OR 5,5; 0,9-107), PAHs, plomo, compuestos de cromo, emisiones de motores de gasolina, y a trabajo sedentario.

Conclusión. La exposición laboral a disolventes orgánicos (alifáticos y alicíclicos, aromáticos, clorados, otros disolventes orgánicos), gasolina, benzo[a]pireno, PAHs, plomo, compuestos de cromo, y a emisiones de motores de gasolina podría estar involucrada directa o indirectamente en la patogénesis del CPE a través de la activación del gen *K-ras*.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Inducción de la inestabilidad de las repeticiones de trinucleótidos CTG asociados con la distrofia miotónica en líneas celulares deficientes en reparación *mismatch*

L. Fernández, E. Piñeiro, R. Marcos, A. Velázquez y J. Surrallés

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Las expansiones de repeticiones de trinucleótidos (ERT) se han asociado a varios desórdenes genéticos, entre ellos la distrofia miotónica. La causa de esta enfermedad es una expansión de repeticiones del trinucleótido CTG, en la región 5' no codificante del gen DMPK. Se han propuesto varios modelos para explicar la ERT, y entre ellos, el deslizamiento de la DNA polimerasa durante la replicación de dichas secuencias, que puede provocar expansiones o deleciones de las mismas; así mismo, se observa que las células deficientes en la reparación de falsos apareamientos o *mismatch repair* (MMR) presentan una elevada inestabilidad de microsatélites. Todo ello nos hace pensar que los mecanismos involucrados en la ERT asociados con la distrofia miotónica podrían estar relacionados con el sistema de reparación MMR. Para estudiar la inducción de la inestabilidad de las repeticiones de trinucleótidos, se establecieron cultivos monoclonales de tres líneas celulares derivadas de cáncer de colon, dos de ellas deficientes en MMR. Los cultivos monoclonales fueron tratados con concentraciones subtóxicas de bleomicina, obtenidas mediante un estudio de toxicidad previo. La longitud de las secuencias repetidas se determinó mediante geles de acrilamida desnaturalizantes a partir de los fragmentos amplificados por PCR. Previamente se estableció que la sensibilidad de nuestro análisis nos permite detectar un alelo nuevo entre cien. Como control interno del estudio, se analizó también el mononucleótido BAT-25, que se caracteriza por una elevada inestabilidad, sobretodo en líneas celulares deficientes en MMR. Se presentarán los resultados del análisis molecular de la inestabilidad de los dos microsatélites en las diferentes líneas celulares.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

The chemical approach to the use of cell cultures in metal toxicology

S. Fortaner, R. Pietra, P. Catalani, E. Sabbioni, M. Balls and M. Fischbach¹

European Commission, IHCP, ECVAM Unit, JRC-Ispra, 21020-Ispra (Varese), Italy

¹Biotechnology Consulting Services, Via Trieste 28/30, 21030-Brinzio (Varese), Italy

The availability of mechanistically based *in vitro* toxicity testing is a key aspect to improve the scientific basis of toxicity tests and non-animal testing strategies.

The development of such *in vitro* testing methods to be used in mechanistic studies on the effects of chemicals (including metal compounds) at cellular and molecular level is a multidisciplinary task.

This paper draws attention to “the deep chemical approach” on which mechanistic studies by cell cultures exposed to metal compounds must be based in order to gain information on metabolic pathways and kinetic patterns of metals in the cell as a basis for the interpretation of metal cytotoxicity. This chemical approach is of particular importance in *in vitro* metal toxicology because many of the factors that influence the uptake and disposition of metals in the cell differ in significant ways from the factors that control the same processes of organic compounds. The possibility of binding of metals with biochemical components of cell culture medium and the change of the original oxidation state of metal atom tested can strongly affect the bioavailability of metal to the cell.

Results here presented intend to be examples concerning the different steps of toxicity testing as investigated by an integrated use of nuclear, radioanalytical and spectrochemical analytical techniques, and bioanalytical and cell culture techniques. In particular, results are referred to: a) the chemical characterisation of chemicals to be assayed and of cell culture medium. This aspect is important to avoid artifacts due to metal impurities present in the original metal compound to be assayed and the in the components of growth medium b) the behaviour of metal species to be tested in cell-free medium. The chemical form of metal to be tested can become different from the simple inorganic species originally added to the medium c) the determination of metals in unexposed cells. The knowledge of the background level of metals in cells is of interest to establish the relative weight of the metal incorporated after exposure of the cells to the metal compound under assay d) metal uptake, intracellular distribution as well as biotransformation in the cell. This information is of fundamental importance to delineate the metabolic patterns of metal incorporated into cells at molecular level.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Test development for *in vitro* testing of metal toxicity and carcinogenicity: the BALB/3T3 assay

F. Mazzotti, B. Cocco, M. Ghiani, R. Ceccatelli, S. Fortaner and E. Sabbioni
European Commission, IHCP, ECVAM Unit, JRC-Ispra, 21020-Ispra (Varese), Italy

Mouse embryo fibroblast BALB/3T3 cell line is the basis of a main *in vitro* cell transformation assay considered to be indicative of a high probability of rodent carcinogenicity or non-carcinogenicity of chemicals. However, despite the use of this assay showed a reasonable good concordance between transformation and *in vivo* carcinogenicity for organic compounds (e.g. polycyclic aromatic hydrocarbons) its application to predict metal carcinogenicity was limited to few metals (e.g. As, Cd, Cr, Ni). Since the standardization of *in vitro* rodent cell transformation assays protocols which meet internationally agreed criteria for test development has been recognized of high priority by ECVAM (European Centre for the Validation of Alternative Methods) experimental work has been undertaken to improve the BALB/3T3 assay to be used for detecting metal carcinogens.

The aims of this paper are to report experimental results concerning: a) the optimization of the protocol of the BALB/3T3 assay for studies of metal carcinogenesis. They are referred to the choice: of growth culture medium among 2 culture media and 4 serum tested; of the thawing procedure of stored cells; of the stock of cells obtained by three different suppliers. Data on the influence of the parameters selected to test the cytotoxicity of metals (Colony Forming Efficiency vs Neutral Red Uptake) and on the determination of the degree of reproducibility of the test will be also showed b) a systematic study (screening test) of the cytotoxic effects induced by a fixed dose (100 μ M) of metal compounds of environmental, occupational and biomedical interest c) a study on the concurrent cytotoxicity and neoplastic morphological transformation induced by a well known metal carcinogen in humans (inorganic trivalent arsenic) and by “newer” metals of interest in high technology or in drug therapy as antineoplastic compounds (Pt).

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Relación entre heterogeneidad intragenómica e inestabilidad cromosómica

J. Surrallés, S. Puerto, M. J. Ramírez, A. Creus y R. Marcos

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Durante la última década, muchos investigadores han analizado la distribución del daño cromosómico, haciendo especial énfasis en la longitud cromosómica. Los cromosomas humanos son extremadamente heterogéneos, no sólo en longitud, sino también en densidad génica, estructura de la cromatina, arquitectura nuclear, tiempo de replicación, longitud telomérica etc. Con objeto de estudiar la posible influencia de estas variables en la inducción, reparación y/o persistencia de las alteraciones cromosómicas, hemos aplicado las siguientes técnicas de citogenética molecular avanzada en diversos tipos celulares humanos y de hámster: (1) inmunocitogenética contra histona H4 acetilada combinada con hibridación in situ fluorescente (FISH), (2) FISH cuantitativo de centrómeros y telómeros con sondas PNA (Q-FISH), (3) FISH específico de brazo en cromosomas metafásicos e interfásicos prematuramente condensados para detectar inversiones pericentroméricas, (4) FISH interfásico con sondas específicas de heterocromatina (región 1q12) y eucromatina (región 17cen-p53) y (5) *painting* multicolor. Nuestros resultados indican que (1) ni la longitud ni la densidad génica modulan la inducción o persistencia de daño cromosómico in vivo o in vitro, (2) la organización interfásica de los cromosomas en territorios nucleares influye en el procesamiento de las roturas cromosómicas, (3) la longitud telomérica podría modular la inducción de daño cromosómico, y (4) la estructura de la cromatina influye en la inducción y/o persistencia de las roturas cromosómicas. En esta ponencia se discutirán los resultados del Grupo en los últimos dos años.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Estudio citogenético mediante FISH de una población control y de otra ocupacionalmente expuesta a radiaciones ionizantes

S. Cigarrán¹, J. F. Barquinero¹, L. Barrios², M. Ribas³, J. Egozcue² y M. R. Caballín¹

¹Unitat d'Antropologia, Dpt. Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia. ²Unitat de Biologia Cel.lular, Dpt. Biologia Cel.lular, Fisiologia i Immunologia y ³Servei de Radiofísica i Radioprotecció de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

En el presente estudio, se ha valorado mediante técnicas de FISH la frecuencia de translocaciones en 20 individuos expuestos ocupacionalmente a radiaciones ionizantes y en 18 individuos control. La FISH se ha realizado *pintando* los cromosomas 1, 4 y 11 con Cy3, y aplicando conjuntamente una sonda pancentromérica marcada con FITC. Se ha analizado un total de 57,480 metafases. En la población control las frecuencias genómicas medias por 100 células (\pm SE) de translocaciones completas y totales fueron 0.58 ± 0.08 y 0.90 ± 0.12 respectivamente. A pesar del amplio rango observado en las frecuencias genómicas individuales de translocaciones (de 0 a 1.12 para translocaciones completas y de 0.20 a 1.92 para las totales), la población se mostró homogénea (Ji-cuadrado de Pearson). Las frecuencias genómicas individuales no mostraron correlación ni con la edad ni con el hábito de fumar.

En la población ocupacionalmente expuesta, las frecuencias genómicas medias para translocaciones completas y totales fueron 0.72 ± 0.09 y 1.04 ± 0.11 respectivamente. La población también se mostró homogénea para las frecuencias genómicas individuales, a pesar del amplio rango observado (de 0 a 1.30 para translocaciones completas y de 0 a 1.73 para las totales). Las frecuencias individuales de la población expuesta no mostraron ninguna correlación ni con la dosis total acumulada ni con la dosis aguda equivalente. Asimismo tampoco se observó efecto de la edad ni de los hábitos de fumador.

Al comparar las dos poblaciones, no se observaron diferencias significativas para las frecuencias de translocaciones. Este resultado puede ser atribuido a que las dosis recibidas por la población expuesta son muy bajas, lo que dificulta la detección de incrementos en dichas frecuencias. Pese a ello, la aplicación de dosimetría biológica permite estimar una dosis superior en la población ocupacionalmente expuesta, aunque las diferencias tampoco son significativas

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Consejo de Seguridad Nuclear (exp. 246/96) y el grupo por la Generalitat de Catalunya (SGR 00061, 1998)

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Valoración de la eficacia de las técnicas de FISH para la detección de irradiaciones parciales

A. Duran¹, J. F. Barquiner¹, M. Ribas³, J. Egozcue², M.R. Caballín¹ y L. Barrios²

¹Unitat d'Antropologia, Dpt. Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia. ²Unitat de Biologia Cel.lular, Dpt. Biologia Cel.lular, Fisiologia i Immunologia. ³Servei de Radiofísica i Radioprotecció de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

La estimación de una dosis de radiación ionizante mediante dosimetría biológica en casos de irradiación parcial, puede implicar una infravaloración de la dosis recibida, debido a la dilución de las células irradiadas por células que no lo han sido. Mediante la aplicación de técnicas de tinción uniforme y teniendo en cuenta que las alteraciones consideradas, cromosomas dicéntricos, siguen una distribución de Poisson, se han desarrollado modelos matemáticos que permiten solventar el problema. Estos modelos únicamente tienen en cuenta las células con alteraciones cromosómicas. Las técnicas de FISH, en particular el *pintado* cromosómico son de gran utilidad para analizar la frecuencia de traslocaciones, y se consideran una herramienta válida para cuantificar exposiciones ocurridas con anterioridad. Estas técnicas permiten también detectar los cromosomas dicéntricos. Las curvas dosis-efecto de dicéntricos realizadas con FISH, son similares a las realizadas con tinción uniforme.

En este trabajo, se ha valorado la eficacia de las técnicas de FISH en la estimación de dosis en casos simulados de irradiaciones parciales. Para ello, muestras de sangre irradiada a cuatro dosis diferentes (2, 3, 4 y 5Gy) han sido mezcladas con sangre no irradiada a los porcentajes de 87,5%, 75%, 50%, 25% y 12,5%. Para el *pintado* cromosómico, se han utilizado sondas de los cromosomas 1, 4 y 11 en combinación con una sonda pancentromérica. En general los resultados indican que solo para las dosis de 4 y 5 Gy, y para porcentajes de sangre irradiada inferiores al 50%, la distribución de aberraciones cromosómicas permite considerar la exposición como parcial. Al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con los obtenidos previamente mediante tinción uniforme, se puede concluir que las técnicas de FISH presentan más limitaciones para establecer correctamente la dosis recibida.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Educación y Cultura (PM98-0168), y el grupo por la Generalitat de Catalunya (SGR 00061, 1998)

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Efecto citogenético de la afidicolina en individuos ocupacionalmente expuestos a bajas dosis de rayos X y relación con el gen reparador *hMSH2*

César Paz-y-Miño, Christian Pérez, Ma. Verónica Dávalos, Fernanda Fiallo, Ma. Eugenia Sánchez, Paola E. Leone

Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana. P. Universidad Católica del Ecuador. Apartado 17-1-2184. E-MAIL cpazymino@puceuo.puce.edu.ec

La población está expuesta a muchos agentes genotóxicos, físicos y químicos. Este estudio tiene el propósito de analizar los efectos citogenético de la acción conjunta de un agente físico y uno químico: rayos X (Rx) y afidicolina, este último un inhibidor de la alfa y delta ADN polimerasa, utilizada como inductor de roturas, y correlacionar con alteraciones del gen reparador de malos apareamientos de bases *hMSH2*, el cual está involucrado, además, en procesos de oncogénesis. Se estudiaron 20 individuos ocupacionalmente expuestos a rayos X con una dosis media de 1,70 ($\pm 1,01$ SD) mSv/año, y 20 controles. Citogenéticamente, para el grupo de individuos expuestos a Rx se realizaron dos preparaciones cromosómicas con una diferencia de doce meses entre la primera y la segunda muestra. Se analizaron 100 metafases por individuo. Un total de 10.000 metafases fueron evaluadas comparando aberraciones cromosómicas inducidas (rayos X – afidicolina) y aberraciones espontáneas (rayos X) con los grupos control (medio de cultivo normal y medio más afidicolina 0,02uM/ml). Los resultados de la comparación de aberraciones inducidas y espontáneas muestran dos tipos básicos de respuesta: un grupo de individuos (60%) no incrementó el daño cromosómico ($p > 0,05$) mientras el segundo presenta sinergismo ($p < 0,001$). Estos resultados evidencian una respuesta genética diferente a la exposición a genotóxicos. A nivel molecular, en los 40 individuos se estudió el exón 13 del gen *hMSH2* (el cual representa la región más conservada del gen) mediante el análisis del Polimorfismo en la Conformación de Cadena Sencilla (SSCP) y secuenciación directa, encontrándose una sustitución T→C en posición -6 en dos de los 8 individuos (25%) del grupo que presenta el sinergismo. Debido a que este polimorfismo está presente en la población general con una frecuencia de tan solo 5% ($p < 0,001$), y a que no se encontró en el grupo sin sinergismo, este podría relacionado con una menor eficiencia en la respuesta reparadora a los daños por agentes genotóxicos (RX y Afidicolina) y con un mayor riesgo carcinogénico. Probablemente este tipo de variaciones en el genoma podrían ser responsables de las diferencias en el comportamiento genético entre los individuos.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Análisis de la inducción y persistencia de las alteraciones cromosómicas generadas por el I¹³¹ en pacientes de cáncer de tiroides e hipertiroidismo mediante técnicas de citogenética molecular

S. Puerto, M.J.Ramírez, R. Marcos, A. Creus, P. Galofré y J. Surrallés

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Los pacientes de cáncer de tiroides ofrecen la oportunidad de estudiar *in vivo* la inducción y persistencia de las aberraciones cromosómicas (AC) después de la exposición a dosis relativamente bajas de yodo radiactivo (I¹³¹), y contrastar la distribución de las AC entre los cromosomas analizados aplicando la técnica del *chromosome painting*. Con este objetivo se ha realizado el seguimiento citogenético en un grupo de 10 mujeres con cáncer de tiroides de las que se disponía de muestras de sangre antes del tratamiento, una semana, un año y 3,5 años después de la administración del I¹³¹. Se ha analizado la frecuencia de AC que afectan a los cromosomas 1, 4 y 10. Los resultados muestran el mismo comportamiento en términos de inducción y persistencia de los tres cromosomas analizados, corroborando estudios previos *in vitro* y no confirmando la mayor radiosensibilidad atribuida al cromosoma 10 *in vivo* por otros autores. En cuanto a la persistencia de las AC, se observa estabilidad de las translocaciones y un declive durante el primer año de la frecuencia de dicéntricos. Por otra parte, teniendo en cuenta que el 90% de los cánceres tienen origen epitelial, se ha analizado el efecto del I¹³¹ en células de mucosa bucal. El estudio se ha realizado en un grupo de 15 pacientes de cáncer de tiroides y en 14 de hipertiroidismo, de los que se han obtenido muestras de mucosa bucal antes y después del tratamiento. En estas células se han analizado las anomalías estructurales y numéricas inducidas por el I¹³¹ mediante FISH multicolor, marcando simultáneamente el centrómero del cromosoma 17 y el locus del gen de la p53. Esta nueva metodología permite la detección de deleciones y ganancias 17 p y anomalías numéricas del cromosoma 17. Los resultados indican un incremento significativo de los distintos tipos de daño evaluados, produciéndose un mayor incremento en los pacientes de hipertiroidismo. Considerando que tanto el marcador utilizado como el tejido diana escogidos son muy relevantes en carcinogénesis, se sugiere que el daño genético observado puede contribuir al incremento del riesgo de cáncer de las personas expuestas terapéutica o accidentalmente a yodo radiactivo.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

La radiación no ionizante procedente de campos electromagnéticos ¿es genotóxica? Revisión, epidemiología e hipótesis

J.M. García Sagredo, C. Villalón, M.C. Sánchez Hombre y M.T. Ferro
Servicio de Genética Médica, Hospital Universitario Ramón y Cajal, 28034-Madrid
E-mail: jgarcias@hrc.insalud.es

La aplicación de la electricidad y su participación en el desarrollo industrial y en el cambio tecnológico importante sufrido en el hogar explica que en las últimas décadas haya habido un progresivo estudio de los efectos que sobre los seres vivos tienen los campos electromagnéticos (CEM). Si a esto se añade el enorme desarrollo e incremento en las tecnologías de las comunicaciones (radio, telefonía móvil, etc.) se entiende que, actualmente, el ser humano esté sometido a los efectos de multitud de CEM.

Se ha sugerido que entre los posibles efectos biológicos adversos de los CEM estaría el genotóxico. Los estudios epidemiológicos que han alertado sobre posibles efectos carcinogénicos comienzan en la década de los 70, describiendo un aumento de leucemias en familias que vivían junto a conducciones eléctricas, aumento de malformaciones congénitas en hijos de trabajadores de subestaciones eléctricas y una frecuencia dos veces mayor de tumores del SNC en personas expuestas a campos de 50 Hz. Aunque hay inconsistencias entre los estudios, en los siete últimos años han aparecido nuevos trabajos mostrando una relación mas o menos fuerte entre leucemia infantil y del adulto así como otros cánceres infantiles con la exposición a CEM de 50 o 60 Hz. No obstante, la confusión de datos, exposiciones, elección de controles, etc., hace que hasta el momento no haya sido posible extraer conclusiones a favor o en contra de los efectos mutagénico-carcinogénicos de la radiación ionizante, máxime cuando no es una radiación única

Paralelamente, los datos experimentales sobre genotoxicidad también son contradictorios. Algunas revisiones remarcan la dificultad de establecer una comparación entre diferentes trabajos dada su diferente nivel de análisis en cuanto al tipo de CEM, densidad de flujo, duración de la exposición, tipo de exposición, así como a la multitud de test empleados y organismos utilizados.

Las hipótesis sobre como pueden actuar, si es que lo hacen, las radiaciones no ionizantes sobre las células y, fundamentalmente, sobre el material genético de forma que pueda establecerse una relación con el cáncer, son muy diversas, ninguna plenamente satisfactoria y dependen mas de las corrientes de moda en la investigación biológica.

Agradecimiento: Estos trabajos se han realizado gracias a los proyectos 88/1056; 89/0159; 90/0252; 93/662 y 96/1593 del Fondo de Investigaciones Sanitarias y 08.1/ 0027/98 de la CAM.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Inducción de micronúcleos "in vivo" por un campo electromagnético de 200 microteslas"

M. Alcaraz¹, R. Martín-Gil¹, C. Acevedo¹, J. Margineda², P. Campos² y M. Canteras³

¹Departamento de Radiología y Medicina Física, ²Departamento de Física, ³Departamento de Bioestadística. Universidad de Murcia. 30100-Espinardo.(Murcia)

a) Animales: Se han utilizado ratones Swiss machos de 9 semanas de edad y un peso aproximado de 20 gr al comienzo del estudio, que se han mantenido en condiciones ambientales controladas. **b) Exposición a radiación electromagnética:** Se ha construido un dispositivo experimental consistente en tres bobinas de 100 vueltas con hilo de cobre de 1 mm de diámetro. Con una frecuencia de 50 Hz, el campo creado por una bobina en su centro es B (en μT) $\approx 0'2 \times I$ (mA). Para alimentar las bobinas se ha construido una fuente de intensidad variable a 50 Hz; en la experiencia se ha alimentado con 700 mA lo que produce un campo magnético de $200 \pm 20 \mu\text{T}$ en la zona de exposición. El tiempo de permanencia dentro del campo electromagnético, en exposición corporal total, es de 0 (como control), 7, 14, 21, 28 días;. **c) Exposición a radiación ionizante:** como control positivo del test se ha procedido a la irradiación con rayos X a un lote similar de animales de animales. Como segundo control, a otro lote de animales se le ha administrado un extracto cítrico soluble al 0'2% disuelto en el agua de bebida durante 5 días previos a la irradiación. La irradiación, en exposición corporal total, se ha realizado con un aparato CGR con radioscopia (GE) a 120 kV, 1'4 mA, filtración de 2'5 mm Al, FOD de 100 cm y rendimiento de 2 cGy/mn. La dosis total a cada animal ha sido de 48 cGy. **d) Test de Micronúcleos:** Se ha realizado el test de MN sobre médula ósea de ratón descrito por Schmidt (1975). Las preparaciones se han teñido con May-Grünwald-Giemsa. Se ha determinado el número de MN en 2000 PCEs en cada animal, y se ha establecido la relación PCEs/Eritrocitos totales (ET). El estudio estadístico ha consistido en análisis de varianza y t de Student.

Resultados: La exposición a los rayos X provoca un incremento significativo en la frecuencia de aparición de MNPCEs en comparación con la frecuencia espontánea ($p < 0,001$), y la administración del EC provoca una disminución significativa en la frecuencia de aparición de MNPCEs ($p < 0'001$) en los animales irradiados.. La frecuencia de MNPCEs en todos los lotes expuestos a radiación electromagnética es superior a la frecuencia de aparición de MNPCEs en los lotes controles no expuestos, llegando a ser el doble de la frecuencia espontánea de MNPCEs y en la que se aprecia diferencia significativa ($p < 0'01$).

Conclusión: El campo magnético ensayado induce un incremento significativo de MNPCEs en el test "in vivo" de médula ósea de ratón.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Influencia del arabinósido de citosina (ara-C) sobre la formación de micronúcleos inducidos por la terapia con yodo-131

S. Gutiérrez¹, E. Carbonell¹, P. Galofré², A. Creus¹ y R. Marcos¹

¹Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. ²Servei de Medicina Nuclear, Ciutat Sanitària i Universitària Vall d'Hebron, Pg. Vall d'Hebron 119, Barcelona

La exposición a la radiación ionizante puede provocar alteraciones en el DNA tales como: roturas de simple cadena y de doble cadena, daños en las bases y azúcares así como enlaces cruzados entre moléculas de DNA o de proteína. Las consecuencias biológicas de estos tipos de lesiones dependen tanto de la eficacia relativa de los procesos de reparación como de la naturaleza de dichas alteraciones. En mamíferos, mucha de la información sobre la función de algunas DNA polimerasas, tanto en la replicación como de la reparación del DNA, se ha obtenido gracias a los estudios de formación de alteraciones genéticas en presencia de inhibidores específicos de la reparación. El ara-C (1-beta-D-arabinofuranosilcitosina) inhibe de manera eficaz las DNA polimerasas α , δ , y ϵ y, en menor grado, la DNA polimerasa β . Las polimerasas β y δ intervienen en la reparación por escisión de bases (BER), mientras que las polimerasas δ y ϵ lo hacen en la reparación por escisión de nucleótidos (NER). Para obtener mayor información sobre los procesos de reparación enzimáticos implicados en la respuesta a la radiación ionizante, hemos evaluado la inducción de células binucleadas con micronúcleos (BNMN) por la terapia con yodo-131 en presencia de ara-C. Este estudio se ha llevado a cabo en dos grupos de pacientes tratados con diferentes actividades del radionúclido yodo-131: pacientes de hipertiroidismo y de cáncer de tiroides. Los cultivos de linfocitos de sangre periférica se realizaron, para ambos grupos, una semana antes de la terapia y una semana después. Se analizó una tercera muestra un mes después del tratamiento, únicamente en el grupo de hipertiroidismo. Para todos los individuos y en todas las muestras se realizaron cultivos con y sin ara-C. Para la evaluación de los resultados se compararon las frecuencias de BNMN inducidas por el ara-C, antes y después de la terapia; dichas frecuencias se estimaron como la diferencia de las BNMN obtenidas con ara-C menos las BNMN obtenidas sin ara-C. Asimismo, se evaluó si existía variación en la capacidad de reparación en función de la edad y de las actividades administradas de yodo-131 tanto entre pacientes con hipertiroidismo como con cáncer de tiroides.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Radioprotección de diferentes extractos polifenólicos frente al daño cromosómico "in vivo" inducido por radiación ionizante

M. Alcaraz¹, J. Castillo², O. Benavente-García², J. Lorente², A. Redondo¹, V. Vicente³ y M. Canteras⁴

¹Departamento de Radiología y Medicina Física, ³Departamento de Anatomía Patológica,

⁴Departamento de Bioestadística. Universidad de Murcia. 30100-Espinardo.(Murcia)

²Departamento de Investigación y Desarrollo de Furfural Español S.A. 80320-Murcia.

Este trabajo se ha financiado con una ayuda de la Unión Europea (ayuda nº 1FD97-0576)

a) Animales: Se han utilizado ratones Swiss machos de 9-12 semanas de edad y un peso de 25-30 gr de peso, que se han mantenido con dieta standard y bebida "ad libitum". Se han utilizado 6 animales por lote.; **b) Extractos y tratamiento:** Todas las sustancias se han administrado vía oral: Extracto de Uva (EU), extracto Cítrico (EC), extracto de oliva (OL), el ácido ascórbico (Vit.C) y el 6n-propyl-2-thiouracil (PTU) se han administrado disueltos al 0'2% en el agua de bebida y se han administrado durante 5 días previos a la irradiación. El Dimetilsulfoxido (DMSO) se ha disuelto en agua (50g/100 ml). La diosmina y rutina se han disueltos en DMSO (300 mg/ml). DMSO, diosmina, rutina se han introducido directamente en la luz gástrica tras intubación esofágica mediante una dosis única de 0'6 ml, 6 horas antes de la irradiación. **c) Exposición a radiación ionizante:** Los animales, en exposición corporal total, se han expuesto a rayos X generados por un aparato CGR con radioscopia (GE) a 120 kV, 1'4 mA, filtración de 2'5 mm Al, FOD de 100 cm y rendimiento de 2 cGy/mn. La dosis total a cada animal ha sido de 48 cGy. **d) Test de Micronúcleos:** Se ha realizado el test de MN sobre médula ósea de ratón descrito por Schmidt (1975). Las preparaciones se han teñido con May-Grünwald-Giemsa. Se ha determinado el número de MN en 2000 PCEs en cada animal, y se ha establecido la relación PCEs/Eritrocitos totales (ET). El estudio estadístico ha consistido en análisis de varianza y t de Student.

Resultados: La exposición a los rayos X provoca un incremento significativo en la frecuencia de aparición de MNPCEs en comparación con la frecuencia espontánea ($p < 0,001$). La administración de las sustancias estudiadas no provoca diferencias respecto de los animales controles no irradiados. Se aprecian diferencias significativas en la reducción de MNPCEs en los animales previamente tratados antes de la irradiación respecto de los animales controles irradiados, pudiéndose establecer estadísticamente que: Controles > diosmina > vitamina C \approx PTU \approx OL > DMSO > rutina > EC > EU. Determinándose una protección del GSE del 74'2 % frente a los animales controles irradiados.

Conclusión: Las sustancias polifenólicas estudiadas muestran un significativo efecto protector frente al daño cromosómico inducido por los rayos X, precisamente a dosis que carecen de efectos tóxicos, lo que supone una diferencia importante respecto al resto de las sustancias radioprotectoras conocidas.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Análisis de no-disyunción y pérdida anafásica en linfocitos humanos irradiados utilizando sondas centroméricas específicas

I. Ponsa¹, J.F. Barquinero², R. Miró¹, J. Egozcue¹ y A. Genescà¹

¹Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia. Facultat de Medicina.

²Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia. Facultat de Ciències. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra.

Para analizar simultáneamente la pérdida anafásica, la no-disyunción, las roturas dentro de la región marcada y los puentes nucleoplasmáticos inducidos por la radiación gamma en linfocitos humanos binucleados, se utilizaron sondas centroméricas específicas para los cromosomas 4, 7 y 18. La frecuencia de micronúcleos totales incrementó según una función lineal-cuadrática. Para la pérdida anafásica, se observaron incrementos significativos a 2 y 4 Gy, mientras que para la no-disyunción los resultados fueron significativos a partir de 1 Gy; por lo tanto, el análisis de la no-disyunción permite detectar los efectos aneugénicos de las radiaciones ionizantes a dosis más bajas que la pérdida anafásica. La utilización de sondas centroméricas específicas permite la discriminación entre los efectos aneugénicos y clastogénicos de las radiaciones ionizantes. El análisis de pérdida anafásica sin considerar las señales fragmentadas, asegura la detección de un efecto aneugénico, lo cual no es posible utilizando sondas pancentroméricas. La frecuencia de roturas dentro de la región hibridada fue superior en los núcleos que en los micronúcleos, sugiriendo un incremento de la inclusión de material cromosómico por parte del núcleo como consecuencia de la presencia de citocalasina en los cultivos. En las muestras irradiadas se observaron filamentos de cromatina que conectaban los dos núcleos principales (puentes nucleoplasmáticos); estos puentes serían la manifestación de reorganizaciones cromosómicas, tales como dicéntricos y anillos, que tienden a formar puentes anafásicos.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Secuencia de separación del centrómero: alteración epigenética inducida por la 5-azacitidina

María Jose Rodríguez¹, Mark A.Lopez², Africa García-Orad¹ and Baldev K.Vig²

1. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea. Lejona. Vizcaya. España

2. University of Nevada, Reno, NV 89557-0015,USA

Los factores que controlan la separación de los distintos cromosomas en la transición meta-anafase en un genoma no se comprenden bien. Existen genomas en los que la separación se correlaciona con la cantidad de heterocromatina pericéntrica, un factor que parece ser de naturaleza epigenética, es decir, la condensación de la heterocromatina pericéntrica.

Inducimos la descondensación de la heterocromatina pericéntrica en células de ratón con concentraciones de 5-azacitidina de 10^{-6} , 4×10^{-6} y 6×10^{-6} M durante 8 horas, provocando la alteración de la secuencia de separación del centromero.

Los centromeros que carecían de heterocromatina pericéntrica, parecen no haber sido afectados ya que no habrían sufrido una alteración epigenética inducida por la 5-AC. El principal efecto se encontró en los cromosomas con mayor cantidad de heterocromatina pericéntrica. Estos cromosomas se separaron significativamente con mayor frecuencia que los de la población no tratada.

También, tratamos células humanas, en las que la separación no depende de la cantidad de heterocromatina, con concentraciones de 5-azacitidina de 2×10^{-5} y 6×10^{-6} M durante 5 y 8 horas. Comparado con el control, el tratamiento de 5-azacitidina produjo un incremento en la frecuencia de separación de los centromeros de los cromosomas acrocéntricos en relación con la de los cromosomas no-acrocéntricos. En el control, los cromosomas acrocéntricos son los últimos en separarse; en la población tratada hubo una separación de los dos tipos de cromosoma casi al azar.

La alteración epigenética podría ser otro factor que induzca la presencia de aneuploidía.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Diferencias en la separación y replicación de los centrómeros inactivos frente a los activos

A. García-Orad¹, B.K. Vig², and D. Auncoïn²

Departamento de Biología Animal y Genética. Universidad del País Vasco. Lejona. Vizcaya

²Department of Biology, University of Nevada, Reno, NV (USA)

Los centrómeros inactivos en células neoplásicas y transformadas presentan una separación prematura en profase y prometafase. Los factores que controlan este proceso no son todavía conocidos. Utilizando una línea de cáncer de mama humana la MDA 435, y una línea transformada de ratón (L929), hemos estudiado la relación entre la secuencia de separación centromérica y el momento de replicación de las regiones asociadas tanto en centrómeros activos como inactivos. Los centrómeros inactivos, en las células L929, replican su heterocromatina pericentromérica antes que la de los activos y se separan antes. Sin embargo, estos resultados no se repiten en las células MDA 435, donde no existe correlación entre el momento de la replicación y la separación de los centrómeros activos e inactivos.

La comparación entre los patrones de replicación y separación tan sólo en los centrómeros activos mostró que la segunda no depende de la primera, ni en las células MDA ni en las L929. Este estudio indica que aunque los centrómeros inactivos en células neoplásicas se separan prematuramente en diferentes especies no existe uniformidad cuando se estudia la replicación o el momento de separación en relación con el momento de replicación de las regiones centroméricas en centrómeros activos. Las implicaciones de este estudio en la inducción de aneuploidías deben ser discutidas

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Experiencia en estudios de genotoxicidad en Ecuador

César Paz-y-Miño

Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito. E-MAIL: cpazymino@puceuo.puce.edu.ec

Como se conoce la relación directa entre sitios de rotura cromosómica, no al azar, y la activación o pérdida de función de genes involucrados en el desarrollo de cáncer, iniciamos nuestro trabajo en inestabilidad cromosómica. Estudiamos mujeres afectas en su cérvix con Papillomavirus humano (PVH) con diversa evolución clínica: tipos 6 y 11 con evolución benigna y tipos 16 y 18 con evolución maligna. La fragilidad cromosómica espontánea e inducida con Afidicolina (Ap) en sangre periférica, mostró las mujeres infectadas con PVH 6 y 11 tenían menor fragilidad que las infectadas con 16 y 18, ambos grupos presentaban diferencias ($p < 0,001$) con el grupo control. Estudiamos la relación entre infección gástrica por *Helicobacter pylori* (Hp) y producción de alteraciones cromosómicas en sangre periférica, encontrándose tres tipos de datos: individuos con cáncer gástrico y Hp con 40% de fragilidad, individuos con cáncer gástrico sin Hp con 18% de fragilidad e individuos controles con 4% de fragilidad, lo cual sugiere que existe relación directa entre los productos metabólicos del Hp, fragilidad y cáncer. Estudiamos individuos expuestos ocupacional a 31 pesticidas organoclorados y carbamatos. En la floricultura evaluamos por área de trabajo, encontramos alteraciones cromosómicas elevadas ($p < 0,001$) comparadas con el grupo control, estas están relacionada al sitio del trabajo (baja en oficina y alta en fumigación y bodega). A niveles bajos de Acetilcolinesterasa en suero, mayores alteraciones citogenéticas. Evaluamos alteraciones cromosómicas en individuos expuestos ocupacionalmente a bajas dosis de rayos X (1,7 mSv/a), la citogenética muestra un índice alto de alteraciones cromosómicas (27,3%) en comparación al grupo control (2%). En los 3 seguimientos, las alteraciones cromosómicas persistían en porcentajes similares. Al inducir alteraciones con Ap y evaluar el efecto del tabaquismo, encontramos dos tipos de respuesta: un grupo no presentaba incremento en sus alteraciones cromosómicas ($p > 0,05$), mientras otro grupo presentaba incremento ($p < 0,001$), 120 veces más asociaciones teloméricas. Posiblemente existe una respuesta adaptativa a la exposición a agentes genotóxicos. A nivel molecular estudiamos polimorfismos del gen reparador hMSH2, los cuales están relacionados a mayor susceptibilidad al cáncer.

Mediante PCR-SSCP el exón 13, con mayor polimorfismo informado (10% en población general), mostró que un 25% de individuos expuestos a Rx que presentan un efecto sinérgico en los daños citogenéticos al tratarlos con Ap, lo manifiestan. La secuenciación comprobó una sustitución TÆC en posición -6, mientras que en los individuos que no presentaron sinergismo el polimorfismo no está presente. El polimorfismo podría relacionárselo con una menor eficiencia en la respuesta reparadora a los daños por agentes genotóxicos (Rx y Afidicolina), por tanto, un mayor riesgo carcinogénico. Comparando los datos citogenéticos con los de la prueba Cometa de los individuos expuestos a Rx, evidenciamos una correlación entre las dos pruebas.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Estudio del riesgo genético en trabajadores ocupacionalmente expuestos a pentaclorofenol en Chile

W.Venegas(1); S.Poblete(1); I.Rudolff(2)

(1) Departamento de Biología Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. (2) Mutual de Seguridad Cámara Chilena de la Construcción

El Pentaclorofenol (PCF) es un pesticida que en Chile es ampliamente utilizado en la region forestal del pais por sus excelentes propiedades como funguicida, en efecto, la industria de la madera lo utiliza para impregnar y preservar madera de exportacion. Informaciones proporcionadas por el Departamento de Quimica de la Universidad de Concepcion, indican que el PCF ha sido detectado en las aguas de rios y lagunas de la Region del Bio Bio, por otro lado, varios casos de intoxicaciones agudas y casos fatales de obreros laboralmente expuestos han sido reportados en los hospitales de la Provincia de Concepcion. En el presente trabajo se hace una estima del riesgo genotoxico a que esta sometido un colectivo de trabajadores envasadores de PCF, impregnadores y clasificadores de madera de exportacion que se desempeñan en aserraderos de la Provincia de Concepcion. Para ello se utilizo el ensayo de micronucleos (MN). El grupo estudiado estuvo formado por un total de 51 trabajadores de los cuales 30 eran obreros laboralmente expuestos y 21 donantes sanos no expuestos que fueron seleccionados como grupo control.

Para averiguar si existian diferencias en los efectos genotoxicos se considero factores como edad, habitos de fumar y consumir alcohol, tiempo y nivel de exposicion. La comparacion de ambos grupos mediante pruebas estadisticas indicaron que el valor medio de 8.5 BNMN para individuos expuestos no presentan diferencias significativas con el valor medio de 7.9 BNMN para los individuos controles.

Los resultados negativos obtenidos pueden deberse a que se constato un periodo de exposicion promedio relativamente bajo, pero principalmente, al continuo y permanente control ejercido por los organismos de seguridad en lo referente al correcto uso de los equipos de bioseguridad laboral.

Financiado por el Proyecto DIUC 99.031.083-1

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Evaluación del daño genético inducido por la exposición laboral a pesticidas

S. Pastor, L. Lucero, A. Creus y R. Marcos

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Los plaguicidas representan un grupo muy importante de contaminantes ambientales al que se le atribuyen un amplio rango de consecuencias adversas para la salud, incluyendo los efectos genotóxicos.

Para aumentar el conocimiento del posible riesgo genético que supone la exposición laboral a compuestos plaguicidas, el Grupo de Mutagénesis de la UAB está participando actualmente en un proyecto europeo en el que se evalúan los riesgos de cuatro poblaciones muy diferenciadas situadas en España, Polonia, Hungría y Grecia. En este estudio de biomonitorización, el daño genético se evalúa utilizando los siguientes biomarcadores: aberraciones cromosómicas (AC), intercambios entre cromátidas hermanas (SCE), micronúcleos (MN) y cometa (SCGE) en linfocitos de sangre periférica, así como MN en células epiteliales de la mucosa bucal. Asimismo, se tiene en cuenta el papel que juegan distintos factores de confusión en la expresión del daño genético, incluido el papel del polimorfismo genético de la glutatión-S-transferasa (GST). En la población española (Almería) se han estudiado dos muestras, en época de alta y baja exposición, respectivamente.

En esta comunicación se presentan los resultados obtenidos en la población española y en la polaca, evaluando la incidencia de MN tanto en linfocitos como en células de la mucosa bucal.

Los resultados obtenidos hasta el momento indican que, en ninguna de las poblaciones estudiadas, ni para ninguno de los marcadores utilizados, se detectan diferencias entre el grupo expuesto a plaguicidas y el grupo control (de la misma zona y con características similares).

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Estudio genotóxico de dos fármacos antihipertensivos con distinto mecanismo de acción

M. Télez¹, B. Martínez¹, B. Criado², O. Peñagarikano¹, B. Ortega¹, P. Flores¹, E. Ortiz-Lastra³ e I. Arrieta¹

¹Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco, Apdo. 644, 48080 Bilbao, ²Instituto Portugués de Oncología, Oporto, Portugal, y ³Centro de Salud Albia, Bilbao

En este estudio se ha testado la posible capacidad genotóxica *in vivo* e *in vitro* del fármaco antihipertensivo β -bloqueante atenolol y del fármaco antihipertensivo calcioantagonista de 2ª generación nimodipino mediante el ensayo de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) y micronúcleos (MN). Además, para determinar el origen de los MN inducidos se aplicó la técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) utilizando una sonda centromérica.

El estudio *in vivo* se realizó en 9 pacientes hipertensos (4 bajo tratamiento con atenolol y 5 en tratamiento con nimodipino). El estudio *in vitro* se llevó a cabo en el mismo número de controles sanos añadiendo la sustancia a ensayar al medio de cultivo en una concentración final similar a la encontrada en plasma.

Los resultados de los análisis en cada fármaco fueron diferentes. En el caso del β -bloqueante atenolol, el análisis de SCE no mostró diferencias significativas ni *in vivo* ni *in vitro* mientras que sí hubo un aumento significativo en la frecuencia de MN en el grupo de pacientes. El alto porcentaje de MN con señales centroméricas permitió señalar la actividad principalmente aneugénica del atenolol *in vivo*.

En el caso del calcioantagonista de 2ª generación nimodipino, el análisis de SCE y MN en el grupo de pacientes no reveló diferencias significativas. Sin embargo, el nimodipino provocó un aumento estadísticamente significativo en la frecuencia de MN *in vitro*. Los resultados de la FISH demostraron que el daño inducido *in vitro* es debido fundamentalmente a pérdidas cromosómicas.

Del estudio se desprende que, aunque ambos fármacos muestran una actividad preferentemente aneugénica, la actividad del atenolol se refleja *in vivo* mientras que la del nimodipino es *in vitro*.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Genotoxic evaluation of 1-(5-bromofur-2-yl)-2-bromo-2-nitroethene (G-1), a novel antimicrobial agent

Xu, J.¹, Farrar, K.¹, Nguyen, M.T.¹, Puig, W.¹, Shore, K.¹, Kamal, J.¹, Carballo, N.², Pérez, G.², Remigio, A.², Fernández, N.², Acebo, A.², Carnesoltas, D.², Rivero, Y.², Contreras, N.², Pérez, G.², Gonzalez, J.³, Saíenz, O.⁴

¹Sitek Research Laboratories. Maryland, USA, ²CENPALAB Cuba, ³UCLV Cuba, ⁴ISCM, Cuba

The furanic product 1-(5-bromofur-2-yl)-2-bromo-2-nitroethene (G-1) synthesized at Centro de Bioactivos Químicos (CBQ), Universidad Central de Las Villas, is a novel broad spectrum antimicrobial agent. This molecule exhibits the unique property of being active *in vitro* against Gram-positive, Gram-negative, aerobic and anaerobic bacteria, yeasts, dermatophytes, and other fungi, that makes it a potential active principle for drugs with such double action. The genotoxic activity of G-1 has been investigated in a standard *in vitro* test battery and, in a second stage, several *in vivo* assays were performed to obtain more information on the genotoxic hazard man might be exposed to. Positive results were obtained in the *Salmonella* reverse mutation assay, but this bacterial mutagenicity may be by a different mechanism (e.g. reductive endogenous metabolism) to that occurring in mammalian cells (oxidative endogenous metabolism). In the chromosomal aberration assay with Chinese Hamster Ovary cells, clastogenic effects were observed, however this increase in clastogenicity only occurred at concentrations which were significantly cytotoxic (in terms of reducing the mitotic index by about 40 to 50 %). No mutagenic potential of G-1, however, was observed in the gene mutation assay with *in vitro* mammalian cells (TK assay in mouse lymphoma cells). Each assay was performed in the presence and absence of an extrinsic metabolic activation system (S-9 mix). Three *in vivo* micronucleus tests in mice (using different protocols and dose routes) and an *in vivo* cytogenetic assay in rat bone marrow were unequivocally negative. These results were supported by negative data from tests in a second tissue in mice, the testes. Both the germ cell cytogenetic assay and the sperm head abnormality assay showed no treatment-related genotoxic effects. G-1 dosed by the ip route at up to half the LD₅₀ value. All these data suggest that G-1 is able to interact with DNA under certain *in vitro* conditions. Negative *in vivo* results, however, did not indicate a genotoxic potential.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Estudios genotóxicos in vivo de 6 extractos de plantas medicinales en células de la médula ósea de roedores

Antonia C. Remigio Montero, Gladys Pérez Arnáez, Nidia Fernández Esperón, Yesenia Rivero Salgado

Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) Fca. Tirabeque Carretera del Cacahual Km 2 ½ Bejucal. Habana. Apdo.3 Telf . (0)(683) 7225, 579008, 579058, e-mail: cetex@cenpalab.inf.cu Fax: 579320

En medicina se considera como planta medicinal a todo aquel vegetal que contiene principio activos dotados de una actividad farmacológica aprovechable desde un punto de vista terapéutico. Por la naturaleza y acciones farmacológicas de estos extractos son muy utilizados en la farmacopea popular como sedantes, diuréticos, analgésicos, cicatrizantes, hipermenorreicos y estimulantes. Se realizó el estudio del efecto mutagénico en células somáticas de roedores de 6 extractos líquidos de plantas medicinales administrados por vía oral, empleando el análisis citogenético en ratas Cnp: SPRD mediante el ensayo de aberraciones cromosómicas en metafase mitótica y el análisis de la médula ósea de ratones Cnp: NMRI mediante el ensayo de micronúcleos. Como controles negativo y positivo se utilizaron agua y ciclofosfamida (40 mg/kg) respectivamente. Al final del tratamiento los animales fueron sacrificados y procesada la médula ósea para obtener las preparaciones. Los resultados demuestran que bajo el tratamiento de los extractos líquidos de las plantas Justicia pectoralis Jacq, Passiflora incarnata L, Jacobinia mohintle Hemsl, Cecropia peltata Lin, Hibiscus elatus Sw, Piper auritum Kth. que se inocularon en una dosis de 2000 mg/kg de peso corporal no hubo evidencia de efectos citotóxicos, ni clastogénicos (inductor de aberraciones cromosómicas) sobre las células somáticas de los roedores tratados.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Tamizaje genotóxico del 1-(5-bromofur-2-il)-2-bromo-2-nitroetano a través de ensayos en células somáticas y germinales

Nelson Carballo Velazquez, Antonia C. Remigio Montero, Gladys Pérez Arnáez, Nidia Fernández Esperón, Yesenia Rivero Salgado

Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB)

Fca. Tirabeque Carretera del Cacahual Km 2 ½ Bejucal. Habana. Apdo. 3 Telf. (0)(683) 7225, 579008, 579058, e-mail: cetex@cenpalab.inf.cu Fax: 579320

El 1-(5-bromofur-2-il)-2-bromo-2-nitroetano es un nuevo quimioterápico obtenido a través de síntesis química que exhibe acción antibacteriana y micocida, a partir del conocimiento de su uso en medicina veterinaria y humana realizamos cuatro ensayos de genotoxicidad, 2 sobre células somáticas: aberraciones cromosómicas y micronúcleos en medula ósea y 2 sobre células germinativas: anomalías de la cabeza del espermatozoide y aberraciones cromosómicas en el testículo.

Se utilizaron ratas de la línea SD y ratones NMRI los que fueron inoculados por vía intraperitoneal con tres niveles de dosis del producto (5, 12.5 y 25 mg/kg), como control negativo utilizamos aceite vegetal. Los resultados demuestran la no genotoxicidad de este producto al no obtener diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de dosis y el control.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Efecto radioprotector de un extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* HBK en células de *Escherichia coli*

J.L. Fuentes¹, A. Alonso¹, A. Sánchez-Lamar², E. Almeida¹, S. Carro¹ E. Prieto¹ y M. Llagostera³

¹ Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear. A.P. 6122. Calle 30 No.502, esq. 5ta Ave, Playa, C. Habana, Cuba. ² Facultad de Biología, Universidad de la Habana, 25 y J, Vedado, C. Habana, Cuba. ³ Universitat Autònoma de Barcelona. Dpto de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, 08193. Bellaterra, Barcelona, España

The study of natural radioprotective substances, which modify the effect of ionizing radiation on living organisms, gives new approaches for the treatment of cancer by the use of radiotherapy or chemotherapy. Bacterial assays to measure primary damage within DNA through induction of the SOS genes has been widely used for the study of oxidant agents, including ionizing radiation. Radio-sensitivity and SOS genes (*sulA*, *recA* and *umuC* genes) kinetic induction experiments were performed at present work. We also designed a co-treatment (*Phyllanthus orbicularis* aqueous extract-gamma radiation doses) to measure cellular survival and *recA* and *umuC* genes induction levels produced in *Escherichia coli*, either in the presence or in the absence of the extract.

In general, significant differences in cell survival after co-treatment were achieved when comparing with the controls, except for the 1 mg/ml co-treatment in both strains and for the 0.1 mg/ml co-treatment in UA-4572 strain. The radioprotector factor was higher at UA-4537 strain. The estimators of primary DNA damage at the co-treatments, has shown antigenotoxic effect for an extract concentration range between 100-2000 mcg/ml. These results strongly demonstrated the effectiveness of the estimator used (SOS genes) to evaluate DNA protective events produced by complex mixtures from vegetal origin. Furthermore, we compared experimental data with previous studies in mammalian cells and the possible mechanisms of antigenotoxic action of the extract are discussed.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Estudio del efecto genotóxico de un extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* HBK utilizando ensayos *in vitro* e *in vivo*

A. Sánchez-Lamar¹, J.L. Fuentes², G. Fonseca¹, A. Alonzo², N. Cápiro¹, D. Moreno², M. Ferrer², L. Baluja¹, M. Fiore³, R. De Salvia³, R. Cozzi⁴ y M. Llagostera⁵

¹ Facultad de Biología, Universidad de la Habana, 25 y J, Vedado, C. Habana, Cuba. ² Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear. A.P. 6122. Calle 30 No.502, esq. 5ta Ave, Playa, C. Habana, Cuba. ³ Centro di Genetica Evoluzionista, CRN, via degli Apuli. 4, 00185 Roma, Italy. ⁴Dipartimento di Biologia, Università degli Studi "Roma Tre", via G. Marconi 446, 00146 Roma, Italy. ⁵ Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Genètica i de Microbiologia, Unitat de Microbiologia (Ciències), Edifici Cn, 08193. Bellaterra, Barcelona, Spain

El estudio del efecto genotóxico de mezclas complejas obtenidas de las plantas usadas en la medicina tradicional, amplía los conocimientos acerca del potencial terapéutico que poseen las plantas medicinales y contribuye al desarrollo continuo de la industria biofarmacéutica. *Phyllanthus orbicularis* HBK, es una planta endémica, propuesta como agente antiviral efectivo en el tratamiento del Herpes virus y la

Hepatitis B, en humanos. En el presente estudio se analizan las propiedades genotóxicas de un extracto acuoso obtenido de esta especie vegetal, usando para ello los ensayos *in vitro*: SOS en *Escherichia coli*, la prueba de Ames en *Salmonella typhimurim*, la de conversión y reversión génicas en *Saccharomyces cerevisiae* (cepa D7), y los ensayos citogenéticos de micronúcleos, aberraciones cromosómicas y anafases anormales, en células CHO; asimismo, se usaron también los ensayos *in vivo*: SMART de alas en *Drosophila melanogaster* y el de micronúcleos en médula ósea de ratón. Los resultados permitieron caracterizar la acción genotóxica del extracto vegetal, describiendo la naturaleza del tipo de daño al DNA que induce según el nivel de expresión en que fue realizado el análisis (estructura primaria, organización génica y estructura cromosómica). Los resultados obtenidos en los ensayos microbianos se compararon con los obtenidos en los modelos de mamíferos empleados y se discutieron en relación con las posibles vías de acción genotóxicas del extracto acuoso.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Perspectives in research on metal toxicity and carcinogenicity by *in vitro* advanced methods (cell cultures)

E. Sabbioni, S. Fortaner, R. Pietra and M. Balls

European Commission, IHCP, ECVAM Unit, JRC-Ispra, 21020 Ispra (Varese), Italy

Specific metal compounds, particularly those of arsenic, beryllium, cadmium, and nickel are occupational carcinogens. They could also pose some risk as environmental carcinogens as industrial activities redistribute them into the environment. Much of the information we have now on the carcinogenic effects of metals have been obtained by bioassays using animal models. However, interpreting animal data in experimental metal carcinogenesis with respect to the human situation is very difficult, both with regard the extrapolation from one species to another and extrapolation for low doses. The development of *in vitro* morphological transformation of mammalian cells in culture has greatly facilitated the study of metal carcinogenesis providing some crucial evidence specific to the carcinogenic potential of a metal which cannot be supplied by genotoxic testing, and data on the molecular mechanisms involved in carcinogenesis. The objectives of this work are: a) to review the scientific database and the state of development of cell transformation assays and their potential role in the study of metal carcinogenesis. Emphasis will be given to the three main rodent cell transformation assays systems (Syrian hamster embryo (SHE) primary cell culture model, BALB/3T3 mouse fibroblast and C3H/10 T1/2 mouse embryo fibroblast). b) to discuss some research priorities that include: the organisation of a focused interlaboratory study involving one or more rodent cell-based transformation assays (prevalidation study); the need of mechanistic studies of metal carcinogenesis; the development of a reliable human cell transformation assay system; and the implementation of an *in vitro* testing strategy for the identification of metal-induced genotoxic and non-genotoxic events leading to malignancy. b) to present experimental results concerning the current use of the BALB/3T3 transformation assay in the context of the IMETOX project (*In Vitro* METal TOXicology) at ECVAM, in order to study the quantitative response of concurrent induction of cytotoxicity and neoplastic transformation by metal compounds of environmental, occupational and biomedical interest. Metals considered will include As, Cr, Pt, V.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Efecto de la ligasa de T4 en la reunión de roturas de cadenas de ADN inducidas por radiación ionizante: estudio comparativo entre PFGE y ensayo del cometa

Edreira, A. Ortiz, T. Piñero, J. Navas, S. Valle, I.

Grupo de Cultivo Celular y Radiobiología. Dpto. Biología Celular. Univ. de Sevilla

Se han utilizado tres líneas celulares procedentes de fibroblastos de hamster chino: (1) xrs-5, defectuosa en la proteína KU-80 perteneciente al complejo de reconocimiento y reparación de roturas de ADN (ADN-PK); (2) K1, línea parental de la anterior; (3) EM9, defectuosa en el péptido XRCC1 y Ligasa III, pertenecientes al complejo de ligación y reparación de roturas de ADN.

Dos métodos electroforéticos, electroforesis de campo pulsado (PFGE) y electroforesis de células individuales (ensayo del cometa) en condiciones alcalinas, hemos aplicado para determinar la cantidad de ADN roto y de ADN reunido en presencia y en ausencia de T4, tras la irradiación con Rayos X y 3 horas de reparación.

La dosis de rayos X que nos permiten observar modulación se seleccionaron, en ambas metodologías, resultando que para la evaluación de la PFGE son, al menos necesarios 50 Gy; sin embargo, en el ensayo del cometa una dosis de 10 Gy muestra diferencias significativas en roturas de cadena, tras las tres horas de reparación.

Nuestros resultados indican que la Ligasa de T4 es capaz de reunir roturas inducidas por radiación ionizante y, además, en nuestra opinión, el método óptimo para la cuantificación de la reunión de roturas, en cuanto a fiabilidad y sensibilidad, es el ensayo del cometa.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Detección de alteraciones citogenéticas, mediante citometría de flujo, en poblaciones naturales de carpas

M.T. Llorente¹, C. Becerril², A. Castaño¹

¹CISA-INIA. Toxicología del Medio Ambiente. Valdeolmos, 28130. Madrid.

² Instituto de Salud Carlos III. Carretera Majadahonda-Pozuelo Km 2. 28220 Madrid.

Durante el período comprendido entre Mayo y Junio de 1998, se realizó un estudio de biomonitorización, a fin de valorar la aparición de alteraciones citogenéticas en una población piscícola natural.

Se seleccionaron a lo largo de una cuenca fluvial tres puntos de muestreo con un posible nivel de contaminación asociado por su cercanía a industrias químicas y a una central nuclear. Se seleccionó además otro punto limpio, localizado en un tramo alto de Río, como referencia o control. En cada punto de muestreo se recogieron 10 ejemplares de carpa común (*Cyprinus carpio*), se anestesiaron, se les extrajo un pequeño volumen de sangre y se devolvieron al medio.

Mediante citometría de flujo y paralelamente mediante microscopía, se analizó y cuantificó la aparición de micronúcleos en células de sangre periférica de cada uno de los peces.

Cuando se utilizó citometría de flujo, los micronúcleos se analizaron a distintos tiempos: el mismo día de muestreo (muestras frescas) y tras períodos de dos y doce meses en los que permanecieron congeladas. Los micronúcleos, en cada muestra, se valoraron tras adquirir 50.000 partículas en el citómetro. Para el análisis microscópico se realizaron frotis sanguíneos en el mismo momento de la extracción de sangre y se tiñeron con Giemsa. El contaje de micronúcleos en 2000 eritrocitos, se llevó a cabo en paralelo por tres observadores distintos.

Nuestros resultados demuestran que la citometría de flujo es una herramienta útil en la detección de micronúcleos en poblaciones piscícolas debido entre otras causas, a la gran variabilidad encontrada en los contajes por microscopía de los distintos observadores. El método de congelación de muestras, necesario en muestreos de campo, permite detectar efectos citogenéticas en tiempos limitados, no preservando las muestras indefinidamente.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Utilización de la técnica de RAPDs en estudios de ecotoxicología: biodiversidad y genotoxicidad

Concepción Becerril¹ y Argelia Castaño²

¹I.S. Carlos III. Majadahonda Madrid

²CISA-INIA. 28130 Valdeolmos, Madrid

La alteración paulatina de la dinámica y estructura de las poblaciones de peces, desde las practicas ilegales de captura, hasta la contaminación existente en el medio acuático, esta afectando peligrosamente a la supervivencia de muchas especies. Los compuestos genotóxicos actuarían como agentes selectivos provocando “cuellos de botella” de consecuencias dramáticas para la población y afectarían a la supervivencia de las especies.

La supervivencia de una especie puede potenciarse si posee un amplio pool genético que pueda responder a factores selectivos múltiples, de esta forma, las poblaciones mas “sanas” son aquellas mas diversas genéticamente hablando.

En la actualidad los mayores problemas a los que se enfrenta la ecotoxicología son, por un lado, la extrapolación de los tests de laboratorio a las situaciones reales de campo y por otro, la extrapolación a escala poblacional de los efectos observados al nivel de individuo. Concretamente en *Ecogenotoxicología*, uno de los principales retos es encontrar metodologías que permitan valorar de una forma general, sensible y con un alto grado de fiabilidad, los efectos que los diferentes grados de contaminación producen sobre el material genético de las poblaciones expuestas.

La técnica de RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA) descrita por Williams et al (1990), utiliza pequeñas cantidades de DNA y no requiere un conocimiento previo de la secuencia genómica a estudiar. Este método permite la detección de mutaciones puntuales en estudios de laboratorio (in vivo e in vitro) mediante la alteración en el patrón de bandas de DNA antes y despues de la exposición al supuesto genotóxico. En el estudio de poblaciones naturales es una herramienta muy útil en la investigación de organismos estrechamente relacionados permitiendo evidenciar alteraciones en la estructura genética de la población.

Financiación : CICYT AMB970431-CO2

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Aplicación del test de Ames y del ensayo de micronúcleos en linfocitos humanos en el estudio genotóxico del Bisfenol F diglicidil éter (BFDGE)

Suárez S., Sueiro R.A., Araujo M. y Garrido M. J.

Instituto de Investigación e Análises Alimentarias. Universidade de Santiago de Compostela. Campus Sur s/n. 15706 Santiago de Compostela. ssuarez@usc.es

Numerosos envases empleados para la conservación de los alimentos están internamente recubiertos con resinas epoxi, o con otros materiales estabilizados con compuestos epoxi. Este tipo de envases pueden liberar distintos compuestos a los alimentos envasados. Entre ellos, se ha detectado la presencia del Bisfenol F diglicidil éter (BFDGE), formado a partir de la condensación de fenol y formaldehído, y cuya genotoxicidad es desconocida. Estudios químicos han mostrado que la concentración de este compuesto puede alcanzar valores de 20 mg/kg de alimento. En este trabajo, y con el fin de determinar el potencial genotóxico del BFDGE, así como el posible riesgo asociado a su presencia en latas de conserva, hemos empleado el test de Ames con las cepas de *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 y TA1535; y las cepas de *E. coli* WP2uvrA y IC3327 (derivada *rfa* de la cepa anterior y con el plásmido KM101). Adicionalmente, y al objeto de ampliar el espectro de detección, hemos usado el ensayo de micronúcleos en linfocitos humanos de sangre periférica en dos donantes. En ambos casos, los ensayos se realizaron tanto en presencia como en ausencia del sistema de activación metabólica S9, procedente de hígado de rata. Las dosis empleadas en el test de Ames oscilaron entre 5.000 y 500 µg/placa, y en el ensayo de micronúcleos entre 12,5 y 62,5 µg/ml. Los resultados obtenidos con el BFDGE muestran un claro efecto genotóxico en los dos sistemas de ensayo usados; mostrando su capacidad para inducir mutaciones puntuales en procariotas, así como su potencial clastogénico y/o aneugénico en células humanas.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Evaluación genotóxica del derivado furiletilénico 2-furil-1-nitroeteno en cultivos de linfocitos humanos

J. González, A. Creus y R. Marcos

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Los nitrofuranos son derivados químicos del furfural que, en general, presentan actividad antimicrobiana, habiéndose demostrado que algunos de ellos pueden poseer actividad mutagénica y cancerígena. En esta comunicación se muestran los resultados obtenidos en la evaluación genotóxica de un nuevo compuesto de reciente síntesis como es el derivado furiletilénico 2-furil-1-nitroeteno, usando cultivos de linfocitos humanos de sangre periférica. En este estudio, la inducción de micronúcleos (MN) y de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) han sido utilizados como indicadores del daño genotóxico producido. Los cultivos se realizaron a partir de muestras de sangre de dos donantes, evaluándose distintas concentraciones y utilizando las metodologías estándar. Para determinar el papel del metabolismo sobre la genotoxicidad de este derivado, se ensayó tanto en presencia como en ausencia de la fracción microsomal S9.

De nuestros resultados concluimos que el agente ensayado no induce incrementos en la frecuencia de células binucleadas con micronúcleos, con y sin activación metabólica. Sin embargo, se observó un ligero incremento significativo en la frecuencia de SCE, pero sólo en las dosis más altas y en los cultivos sin activación metabólica. Este incremento desapareció cuando se estudió el producto en presencia de la fracción microsomal S9, lo que indicaría que la metabolización del compuesto elimina su actividad genotóxica. Finalmente, este derivado furiletilénico mostró cierta actividad citotóxica, reflejada en el índice de proliferación celular, fundamentalmente en los cultivos sin S9.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Aproximaciones al estudio *in vivo* de mecanismos de acción de agentes genotóxicos: utilidad de *Drosophila*

L. M. Sierra, L. Tosal., L. Álvarez, N. Díaz-Valdés, J. Hernando y M. A. Comendador

Departamento de Biología Funcional. e Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias, Universidad de Oviedo. C/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo

Nuestro grupo de investigación ha estado interesado, desde su comienzo, en el estudio de mecanismos de acción de distintos agentes genotóxicos. Para ello, se ha estudiado su mutagenicidad en células germinales, junto con la obtención, cuando ha sido posible, de espectros moleculares de mutación, en *Drosophila melanogaster*.

Así se ha podido demostrar la influencia del tipo o estadio celular analizado, en la mutagenicidad de agentes alquilantes mono y polifuncionales, en el sentido de que esta mutagenicidad es menor en células premeióticas, tanto masculinas como femeninas, que en células postmeióticas. Además, hemos encontrado que la relevancia mutagénica de distintos tipos de daños no es la misma en los dos tipos de células.

En cuanto al papel que desempeñan distintos sistemas de reparación, hemos demostrado por un lado, que el mecanismo de reparación por escisión de nucleótido interviene en la reparación de daños causados por agentes tan dispares como acroleína, hexametilfosforamida, dietilsulfato (DES) o etilnitrosourea (ENU). Por otro lado, hemos obtenido primero evidencias, y posteriormente confirmaciones, del papel que el locus *mus308* juega en el procesamiento no sólo de enlaces cruzados, sino también de daños monofuncionales persistentes, como los inducidos por ENU o DES, en distintos tipos celulares.

Por último, hemos puesto de manifiesto la importancia del metabolismo xenobiótico en la mutagenicidad de agentes genotóxicos, al demostrar cómo la mutagenicidad de la acroleína depende tanto de su acción directa sobre el DNA, como de su transformación en glicidaldehído. También, resultados con dietilnitrosamina, un agente alquilante monofuncional similar a ENU pero que necesita activación metabólica, sugieren la importancia de distintos metabolitos como productores de daños que contribuyen a su mutagenicidad.

Dado que, como está poniendo de manifiesto la genómica, las diferencias entre eucariotas superiores son de menor entidad que las hasta ahora supuestas, creemos que este tipo de trabajos pueden aportar una importante información para comprender los mecanismos de mutación que operan en otras especies.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Genotoxicidad del cromo y su modulación por el selenio, en el ensayo SMART de alas, en *Drosophila*

Rizki, M., Amrani, S., Creus, A., Marcos, R.

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

El ensayo de mutación y recombinación somáticas (*Somatic Mutation and Recombination Test, SMART*) de *Drosophila melanogaster*, que utiliza marcadores que afectan a la morfología de las quetas de las alas, se ha usado para evaluar la actividad genotóxica de dos compuestos de cromo hexavalente (cromato y dicromato potásico) y uno de trivalente (cloruro de cromo), así como de un compuesto de selenio (selenito de sodio). Este ensayo permite detectar los efectos de la recombinación mitótica así como otros fenómenos mutacionales. Los efectos genotóxicos se han evaluado teniendo en cuenta la incidencia de sectores mutantes en las alas de moscas trans-heterocigóticas para los marcadores recesivos del tercer cromosoma *multiple wing hairs (mwh)* y *flare-3 (flr³)*, así como en moscas heterocigóticas para *mwh* y la inversión múltiple *TM3*. Los cambios genéticos inducidos en las células de los discos imaginales de las alas conducen a la formación de clones mutantes en ambas superficies alares. Los sectores simples pueden ser originados por diferentes mecanismos, mientras que los sectores dobles tan sólo pueden originarse por recombinación mitótica. El estudio sobre la posible antigenotoxicidad del selenio se ha llevado a cabo utilizando pre- y co-tratamientos con selenito sódico y dicromato potásico.

Los resultados obtenidos indican que ambos compuestos de cromo (VI) inducen claros y significativos incrementos en la frecuencia de todos los tipos de clones analizados. Por el contrario, el cloruro de cromo (III) no induce ningún incremento en la frecuencia de clones mutantes. Una parte muy importante de los clones inducidos por el cromo (VI) es debida a recombinación mitótica, lo que confirmaría la capacidad recombinogénica de este tipo de compuestos.

Los resultados obtenidos en los experimentos de antigenotoxicidad muestran que ambos tratamientos (pre- y co-) con selenio reducen drásticamente los efectos del cromo (VI) hasta los valores basales. Así, el selenio demuestra ser un potente agente antigenotóxico frente a los efectos inducidos por el cromo (VI). Estos resultados confirmarían la utilidad de este ensayo *in vivo* en los estudios de genotoxicidad y antigenotoxicidad.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Estudios de genotoxicidad de varios aceites de consumo humano en *Drosophila melanogaster*

M.M. Rojas Molina¹, J. Campos¹ y A. Alonso¹

¹Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, España

Entre la gran variedad de ensayos de genotoxicidad existentes, el ensayo de mutaciones y recombinaciones somáticas en alas de *Drosophila melanogaster* tiene ciertas características que lo hacen muy apropiado para detectar tanto genotoxinas como antígenotóxicos: es fácil, usa un organismo eucariótico *in vivo* y es capaz de detectar la actividad genotóxica de promutágenos sin necesidad de activación metabólica exógena. El objetivo del presente trabajo es estudiar la capacidad mutagénica de aceites vegetales analizando los factores que la puedan causar: pesticidas, relación ácidos grasos insaturados/saturados, polifenoles y tocoferoles. La variación en la relación ácidos grasos insaturados/saturados y el tipo de ellos, puede determinar el nivel y tipo de daño genético ejercido por un aceite, o sobre todo su capacidad antígenotóxica. Los ácidos grasos y los polifenoles pueden actuar como protectores de mutagénesis por su acción antioxidante, no sólo en los pasos que preceden a la inducción de lesiones, sino en los procesos de reparación del ADN suprimiendo la activación metabólica o interaccionando con grupos activos de agentes mutagénicos.

Se ha estudiado la capacidad mutagénica de 9 aceites: girasol, lino, maíz, soja, sésamo, germen de trigo, orujo y oliva virgen extra, utilizando cepas de baja y alta bioactivación (*mwh* y *NORRflr* respectivamente). Los resultados obtenidos en ambos tipos de fondo genético muestran una elevada potencia mutagénica para todos los aceites biológicos obtenidos por presión en frío, así como valores negativos e inconcluyentes para los aceites de oliva probados (orujo y oliva virgen extra). En los casos de resultados positivos las cepas de alta bioactivación muestran valores más elevados que los de baja bioactivación. Se precisa un análisis químico paralelo de los componentes y/o contaminantes diferenciales de los aceites que puedan producir la alta mutagenicidad detectada en los aceites biológicos.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Mutagenicidad y espectro molecular de mutación inducido por dietilsulfato (DES) en células postmeióticas masculinas de *Drosophila melanogaster* en condiciones *mus308*

N. Díaz-Valdés, M. A. Comendador y L. M. Sierra

Departamento de Biología Funcional. e Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias, Universidad de Oviedo. C/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo

El producto del gen *mus308* de *D. melanogaster* ha sido implicado en el procesamiento de lesiones que no se escinden, y por tanto son persistentes en el ADN, así como aquellas otras que afectan a ambas cadenas de ADN. Recientemente se ha secuenciado este gen encontrándose que codifica una proteína con motivos característicos de ADN polimerasa y de helicasa. Con el fin de obtener mas información sobre la función de este locus, se inició el estudio de la mutagenicidad inducida en células germinales postmeióticas masculinas de *Drosophila* por dietilsulfato (DES), y la construcción del espectro molecular de mutación inducido por este compuesto utilizando el gen *vermilion* como diana.

Se ensayaron dos concentraciones diferentes de DES que ya se habían utilizado en estudios previos realizados en condiciones normales de reparación. Al comparar estos resultados con los obtenidos en condiciones *mus308*, mediante la estimación del índice de mutabilidad, se encontró hipermutabilidad con la concentración menor de DES e hipomutabilidad con la concentración mayor. Esto indicaba que existen al menos dos lesiones diferentes que son procesadas por la proteína MUS308. La hipermutabilidad encontrada con la concentración menor implica que MUS308 participa en el procesamiento de lesiones inducidas por DES y que estas lesiones son premutagénicas. Por otro lado la hipomutabilidad inducida por DES, confirma el papel del gen *mus308* en el procesamiento de lesiones inducidas por este compuesto, indicando además que algunas de estas lesiones son letales si no son reparadas.

A la vista de estos resultados y con el objeto de arrojar mas luz sobre el papel que juega el locus *mus308* en los procesos de reparación, se ha incrementado el espectro de mutación inducido por DES en condiciones *mus308* utilizando la concentración mayor del compuesto. Se han aislado 20 mutantes *vermilion*, 10 de los cuales han sido caracterizados a nivel molecular generando un espectro de mutación provisional compuesto por: 6 transiciones GC-AT, 2 transiciones AT-GC, 1 delección y 1 translocación. Tanto la delección como la translocación pueden explicarse por N-etilación. Al analizar los efectos de la dosis, los resultados sugieren que O⁴-etilimina podría ser la lesión responsable de la hipermutabilidad observada, mientras que N3-etiladenina sería la lesión responsable de la hipomutabilidad encontrada con la concentración más alta del compuesto.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Mutagenicidad inducida por dietilsulfato en células germinales femeninas de *Drosophila melanogaster* en condiciones normales y deficientes de reparación *mus308*

Hernando J., Comendador M.A., Sierra L.M.

Departamento de Biología Funcional. e Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias, Universidad de Oviedo. C/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo

Tradicionalmente el estudio de la mutagenicidad de un compuesto, utilizando *Drosophila melanogaster* como organismo diana, se ha basado en el estudio de células germinales masculinas. Sin embargo existen evidencias que indican que la respuesta no tiene porqué ser extrapolable al otro sexo, bien por la distinta accesibilidad de mutágeno a las células, bien por la distinta viabilidad de las células dañadas, o bien por la existencia de sistemas de reparación, activos en el caso de las células femeninas.

Utilizando el test de letales recesivos ligados al sexo (SLRL) se ha evaluado la genotoxicidad del agente alquilante dietilsulfato (DES) en células germinales femeninas de *Drosophila melanogaster*. Para ello se emplearon dos concentraciones de DES, 10mM y 15mM. Con ambas se obtuvo respuesta positiva: la frecuencia de letales recesivos fue del 0,48% para 10mM y 0,38% para 15mM, pero, al contrario de lo que ocurre en machos, no se aprecia diferencia entre ellas. Además las respuestas son muy inferiores a las encontradas en machos lo que reafirma lo expuesto anteriormente de que las células femeninas responden de distinto modo que las masculinas.

Puesto que una de las diferencias entre los sexos estriba en que en las células germinales femeninas se mantienen activos los sistemas de reparación del DNA, se ha intentado establecer la influencia de un sistema de reparación postreplicativa, en concreto el locus *mus308*, sobre la acción de dicho compuesto. Para ello se trataron de igual modo hembras deficientes *mus308* y se compararon con hembras normales. De nuevo se encontró respuesta positiva, aunque en este caso solo para la concentración más alta con una frecuencia de SLRL del 0,59%, apareciendo una ligera hipermutabilidad respecto a la línea normal que, sin embargo, no se puede considerar diferente tras un análisis estadístico. El hecho de que no haya respuesta positiva para la concentración 10mM podría indicar la influencia de este locus en la sensibilidad de las células femeninas frente a este compuesto. No obstante, estos resultados se diferencian de los obtenidos tratando machos, ya que no ponen de manifiesto, al menos directamente el papel de *mus308* en el procesamiento de los daños inducidos por DES.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Mutagenicidad inducida por ENU en células germinales femeninas de la línea *mus308* de *D.melanogaster*

Álvarez, L., Sierra, L.M., Comendador, M.A.

Departamento de Biología Funcional e Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias, Universidad de Oviedo. C/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo

El locus *mus308*, propuesto como modelo para el estudio de la enfermedad humana Anemia de Fanconi (Boyd y col. 1990) presenta sensibilidad al nitrógeno mostaza y a los agentes cross-link pero es insensible al agente alquilante MMS. La hipótesis de que este locus pudiera estar implicado en un proceso de reparación postreplicativo de daños persistentes que bloquean la replicación (Aguirrezabalaga y col., 1995; Harris y col., 1996) ha sido recientemente confirmada por el trabajo de Tosal y col, (2000) que encontraron hipermutabilidad inducida por ENU, un agente alquilante monofuncional cuya mutabilidad se basa principalmente en la inducción de daños en los oxígenos del DNA, dando lugar a aductos de vida media larga y difícil reparación, en células postmeióticas masculinas de *D. melanogaster* en condiciones *mus308*.

Para obtener mas información sobre el papel *in vivo* del gen *mus308* en la reparación de este tipo de daños y teniendo en cuenta que el espectro de mutación inducido por ENU difiere dependiendo del estadio de las células germinales considerado (Tosal y col. 1998), en este trabajo hemos abordado el estudio de la mutagenicidad inducida por ENU en células germinales femeninas de la línea *mus308* de *D. melanogaster*. Estas células premeióticas presentan todos los sistemas de reparación activos a excepción del locus *mus308*.

La comparación de los resultados de este trabajo con los obtenidos previamente en condiciones normales de reparación, muestran que ENU induce hipermutabilidad a nivel de letales recesivos tanto en oocitos como en oogonia de la línea *mus308* de *D. melanogaster*, lo que supone otro apoyo a un papel de *mus308* en el procesamiento de alguno de los daños inducidos por este compuesto.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Efecto de la decocción de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. en la mutagenicidad de agentes alquilantes

Cápiro, N¹., Sánchez-Lamar, A¹., Fonseca, G¹., Baluja, L¹., Fuentes, J¹., de la Rosa, M.E².

1 Facultad de Biología, Universidad de la Habana, Cuba.

2 Facultad de Química, UNAM, México DF

Cymbopogon citratus (D.C.) Stapf. (Caña Santa o Caña de Limón), es una planta herbácea de la familia *Poaceae* que se encuentra fácilmente en Cuba en patios y jardines; en la actualidad, es un cultivo comercial en casi todas las regiones del país. La decocción de sus hojas se consume comúnmente por la población por su sabor agradable como bebida y fundamentalmente por sus múltiples propiedades medicinales como hipotensor, anticatarral, antifúngico y antibacteriano.

Estudios realizados a extractos de la planta diferentes a la decocción, demostraron que tuvo actividad antimutagénica frente a varios mutágenos en el ensayo de *Salmonella*, inhibió las aberraciones cromosómicas en linfocitos humanos expuestos a mitomicina C, inhibió la formación de micronúcleos en ratas expuestas a ciclofosfamida y disminuyó el crecimiento tumoral y el grado de metástasis en ratas trasplantadas con fibrosarcoma. La evaluación genotóxica de la decocción de sus hojas en los ensayos de segregación mitótica y mutación puntual de *Aspergillus nidulans* y en el ensayo de micronúcleos de médula ósea realizado en ratas Wistar, fue negativa.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la potencialidad antigenotóxica de la decocción de las hojas de la Caña Santa frente a MMS y ENU mutágenos alquilantes monofuncionales que difieren en su mecanismo de acción, en el ensayo mosaico de alas de *Drosophila melanogaster*, prueba que *in vivo* permite conocer la capacidad que pueden tener las mezclas complejas de modular el daño mutacional y recombinogénico inducido.

Siguiendo un esquema de cotratamiento, fueron tratadas de forma crónica larvas trans-heterocigóticas *mwh +/ + flr³* de 72h, con 3 concentraciones de cada uno de los mutágenos y 2 del extracto vegetal; se utilizó como control negativo solución de sacarosa al 5%. El extracto a las concentraciones ensayadas causó una reducción estadísticamente significativa de los valores de frecuencias de manchas totales obtenidas para los cotratamientos respecto a las frecuencias inducidas por los mutágenos.

Estos resultados demuestran que la decocción de las hojas de *Cymbopogon citratus* es antigenotóxica frente a los alquilantes MMS y ENU, y sugieren que este efecto protector pueda extenderse frente a la acción de otros mutágenos.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

El problema de la detección de la mutagénesis inducida por estrés oxidativo: su solución, a partir de una hipótesis errónea

M. Blanco

FVIB, Instituto de Investigaciones Citológicas, Calle Amadeo de Saboya 4, 46010 Valencia

Los ensayos bacterianos de mutagénesis utilizan la metodología desarrollada por Bruce Ames en su test basado en cepas de *Salmonella typhimurium*, el cual adquirió la forma definitiva en 1975 al incorporar dos cepas de ensayo, denominadas TA98 y TA100, que pueden considerarse no superadas hasta el presente. Sin embargo, en 1982, el propio Ames reconoció que estas dos cepas no detectaban las mutaciones de origen oxidativo, es decir derivadas de lesiones en el DNA provocadas por la acción de especies reactivas de oxígeno, y propuso para dicha detección una nueva cepa denominada TA102. Los compuestos que dan una respuesta positiva en la cepa TA102 se consideran mutágenos oxidativos, y la presencia en dicha cepa de defensas antioxidantes no parece haber suscitado la cuestión sobre si esas defensas podrían interferir con la detección de mutaciones oxidativas.

En 1994, en el curso de un estudio sobre mutaciones inducidas por benzo(a)pireno en una cepa de *Escherichia coli*, nos interesamos por el origen de las mutaciones espontáneas generadas a través del mecanismo mutagénico SOS, preguntándonos si dichas mutaciones serían de origen oxidativo. Al investigar esta posibilidad observamos que la inducción de mutaciones espontáneas derivadas de una lesión oxidativa (8-oxoguanina) no requería el mecanismo SOS, y ello nos hizo reparar en el hecho de que los genes mutadores descritos actuaban independientemente del mecanismo SOS. ¿Existía un gen mutador dependiente de SOS? La respuesta nos la proporcionó una publicación de 1987, del grupo de Ames, en la que se describía un gran efecto mutador, SOS-dependiente, en una cepa deficiente en la función OxyR, función que regula la transcripción de genes que codifican defensas antioxidantes. Este resultado nos llevó a elaborar una hipótesis: en las bacterias con el mecanismo SOS activado constitutivamente se produciría una inhibición de la función OxyR, lo cual llevaría a la producción de lesiones oxidativas en el DNA que serían procesadas por el mecanismo SOS dando lugar a mutaciones. Nos planteamos la construcción de una cepa SOS-constitutiva y OxyR-deficiente. Para ello se empezó por obtener un mutante *oxyR* y, en el curso de su caracterización, descubrimos que su nivel espontáneo de mutagénesis era normal. Sin embargo, podían encontrarse cultivos de la cepa *oxyR* ricos en mutantes con una frecuencia mayor a la observada en una cepa *oxyR*⁺. Esto explicaría el resultado erróneo de Ames. Nuestra hipótesis quedaba invalidada. Pero la cepa *oxyR* se había convertido en la cepa adecuada para la detección de la mutagénesis inducida por estrés oxidativo.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Cuantificación de la transcripción *in vivo* mediante RT-PCR múltiple

M. Manchado, C. Michán y C. Pueyo

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba

La cuantificación de la expresión génica *in vivo* mediante RT-PCR múltiple presenta grandes dificultades técnicas debido a su naturaleza exponencial. Presentaremos la optimización de un método para cuantificar con seguridad por RT/PCR la transcripción de hasta 10 genes diferentes. Discutiremos sus fundamentos teóricos y desarrollo práctico. Tras el aislamiento de ARNm de las muestras a estudiar y su retrotranscripción a ADNc, se amplifican en el mismo tubo mediante PCR todos los genes diana así como un gen interno de expresión constitutiva y dos controles externos. Un cebador de cada pareja se marca con un fluoróforo y el ADN resultante se cuantifica con un secuenciador automático PE 377. Posibles variaciones en la expresión del gene constitutivo (transcrito de referencia) se detectan mediante dos estrategias: PCR competitiva con un ARN externo homólogo a dicho transcrito y PCR no competitiva con un ARN externo heterólogo. La cuantificación precisa y repetitiva de los transcritos diana, requiere optimizar las condiciones de la PCR múltiple con el fin de constatar la proporcionalidad de los productos finales frente a la cantidad de los ARNm específicos iniciales. Proponemos dos tipos de aproximaciones en las que se varía bien el número de ciclos de la PCR (tipo C) ó bien la cantidad de ARN inicial (tipo T).

Financiación: PB98-1627 y Junta de Andalucía (CVI-0187)

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Inducción del regulón SoxR/S mediante H₂O₂ en *E. coli*

C. Michán, M. Manchado y C. Pueyo

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba

La defensa a estrés oxidativo en *E. coli* se articula básicamente en tres grupos de genes: **1)** El regulón SoxR/S que se induce tras la exposición a compuestos generadores de anión superóxido (paraquat, menadiona, etc), **2)** El regulón OxyR que se induce por H₂O₂, y **3)** El regulón RpoS asociado a fase estacionaria de crecimiento y situaciones de hambre de carbono. Mediante RT-PCR múltiple, hemos cuantificado la expresión *in vivo* de genes pertenecientes a estos regulones en respuesta a estrés por H₂O₂. Se han realizado tanto cinéticas de concentraciones del inductor como de tiempos de exposición. Se observa la inducción por H₂O₂ de genes del regulón OxyR pero inesperadamente también de genes pertenecientes al regulón SoxRS. Los niveles máximos de inducción corresponden al transcrito *soxS*, que se induce 6-7 veces en menos de 1 min de exposición a 100 μM de H₂O₂. Por lo general, genes bajo el control de SoxS (como *sodA*, *inaA* o *fpr*) muestran niveles de expresión inferiores y a tiempos más largos de exposición (10 min). Mediante estirpes deficientes en los reguladores OxyR, SoxR y RpoS hemos demostrado que la inducción del regulón SoxR/S por H₂O₂ depende exclusivamente de la presencia de la proteína SoxR. Dicho resultado sugiere que esta proteína es susceptible de oxidación (directa o indirecta) por H₂O₂, y abre nuevas vías de intercomunicación entre ambos regulones.

Financiación: PB98-1627 y Junta de Andalucía (CVI-0187)

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Los sistemas glutarredoxina y tiorredoxina desempeñan un papel clave en el control transcripcional de la respuesta adaptativa frente a estrés oxidativo

M.J. Prieto-Álamo, J. Jurado, R. Gallardo-Madueño, F. Monje-Casas y C. Pueyo
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba, 14071-Córdoba

En *Escherichia coli* hemos cuantificado los niveles de transcripción in vivo de 16 genes pertenecientes a los sistemas glutarredoxina y tiorredoxina, y a los regulones OxyR (inducible por peróxido de hidrógeno) y SoxRS (inducible por anión superóxido). Bacterias simultáneamente deficientes en Trx1 (trxA) y GSH (gshA) disparan la transcripción de grxA (Grx1) de forma dependiente de OxyR. En contraposición, en el ambiente oxidante de los mutantes dobles trxA gshA, no se observa una transcripción constitutiva de genes dependientes de SoxR. En ausencia de Trx1 y GSH también se incrementan los niveles de los transcritos de la tiorredoxina reductasa (trxB) y de Trx2 (trxC). Este incremento y la expresión constitutiva en un mutante oxyRC permite concluir que el sistema tiorredoxina también está regulado por OxyR. A diferencia de los genes grxA y gorA (sistema glutarredoxina), y trxC y trxB (sistema tiorredoxina), no se observó cambio alguno en la expresión de los genes que codifican Trx1 (trxA), Grx2 (grxB) y Grx3 (grxC). La transcripción del operón nrdAB (ribonucleótido reductasa) no se indujo por estrés oxidativo, pero sí por hidroxiiurea (un inhibidor de la RRasa), siendo el nivel de inducción similar al obtenido en mutantes trxA grxA. Esto sugiere que el funcionamiento de la RRasa sin Trx1 y Grx1 (principales donadores de electrones) conduce a alteraciones comparables a las provocadas por hidroxiiurea. Por último, también hemos demostrado que existe una relación inversa entre la transcripción del operón nrdAB y la de genes de los sistemas glutarredoxina (grxA y gorA) y tiorredoxina (trxB y trxC).

Financiación: PB98-1627 y Junta de Andalucía (CVI 0187)

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Detección de mutágenos oxidativos con el WP2 Mutoxitest, un ensayo basado en la nueva cepa de *Escherichia coli* IC203, deficiente en la función OxyR

M. Blanco, A. Martínez y A. Urios

FVIB, Instituto de Investigaciones Citológicas, Calle Amadeo de Saboya 4, 46010 Valencia

La cepa de *Escherichia coli* IC203, derivada de WP2 *uvrA*/pKM101 (denominada IC188), presenta una gran sensibilidad al estrés oxidativo debido a una deficiencia en la función OxyR. IC203 ha sido incorporada al ensayo bacteriano de reversión WP2 Mutatest dando lugar al nuevo ensayo denominado WP2 Mutoxitest, el cual se ha utilizado para la evaluación de la mutagénesis oxidativa inducida por 80 compuestos. Se detectaron los siguientes 31 mutágenos oxidativos, que fueron reconocidos por originar una respuesta mutagénica mayor en la cepa IC203 que en la IC188: (1) peróxidos: peróxido de hidrógeno, *t*-butil hidroperóxido y cumene hidroperóxido; (2) benzoquinonas (BQ): 2-metil-1,4-BQ, 2,6-dimetil-1,4-BQ y 2,3,5,6-tetrametil-1,4-BQ; (3) naftoquinonas (NQ): 1,4-NQ, 2-metil-1,4-NQ y 2-hidroxi-1,4-NQ; (4) derivados del fenol: catecol, hidroquinona, pirogalol, 1,2,4-trihidroxibenceno, *t*-butil hidroquinona, ácido gálico y 4-aminofenol; (5) catecolaminas: DL- y L-dopa, DL- y L-epinefrina, dopamina y L-norepinefrina; (6) tioles: L-cisteína metil éster, L-cisteína etil éster, L-penicilamina y ditiotreitól; (7) diversos: ácido 3,4-dihidroxifenilacético, hipoxantina y xantina, ambas en presencia de xantina oxidasa, L-ácido ascórbico en presencia de cobre (II), y fenacina metosulfato. De estos mutágenos oxidativos, 25 fueron positivos en la cepa IC203 pero no en la cepa IC188. La mutagénesis inducida por los mutágenos oxidativos, con excepción de *t*-butil hidroperóxido y cumene hidroperóxido, fue inhibida por catalasa presente en la fracción post-mitocondrial S9 de hígado de rata, indicando que está mediada por la generación de peróxido de hidrógeno, probablemente en reacciones de autooxidación. Estos mutágenos oxidativos sensibles a catalasa fueron débiles inductores de mutaciones derivadas de lesiones 8-oxoguanina, mientras que dichas mutaciones fueron inducidas eficientemente por los hidroperóxidos orgánicos. Los resultados muestran el interés de incorporar la cepa IC203 a la batería de cepas bacterianas recomendada para el ensayo de la genotoxicidad de compuestos químicos.

(Proyecto CICYT I+D del Programa Nacional de Salud)

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Rápida detección de compuestos mutagénicos directos en *Salmonella typhimurim* TA100 aplicando una técnica de impedancia eléctrica

L. García Peñalver*, R.A. Sueiro Benavides, M.J. Garrido Vázquez

Laboratorio de Microbiología. Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios. Campus Universitario Sur. 15706 Santiago de Compostela (España). (*e-mail: mplgp1@usc.es)

El ensayo de mutagenicidad reversa en *Salmonella typhimurim* o test de Ames es uno de los métodos más empleados en la detección de mutágenos. Sin embargo, la obtención del resultado final se ve alargada por el tiempo requerido para la realización de medios, el período de incubación necesario para permitir el crecimiento de las bacterias revertientes y su posterior recuento. Por ello, estamos intentando desarrollar un método alternativo más sencillo, usando el Bactometer® 128, analizador electrónico que detecta cambios en la corriente eléctrica producidos por el metabolismo microbiano. Estudios previos nos han permitido obtener medios capaces de diferenciar en el tiempo de detección (DT), la cepa auxotrofa TA 100 (*hisG46*, *rfa*, *uvrA*, *pKM101*) de su prototrofa, como primer paso para diseñar un método alternativo al test de Ames, empleando los mismos principios en los que se basa dicho test.

En el presente estudio y con la finalidad de evaluar la efectividad de este nuevo método, se ha empleado la cepa TA100 y uno de los medios previamente seleccionados para analizar distintos mutágenos directos (4-nitroquinoleín-*N*-óxido, nitrofenilendiamina, 2-nitrofluoreno, metil metanosulfonato), así como sustancias tóxicas (cristal violeta, hexano y xileno) e inócuas (glucosa).

Los análisis se realizaron por triplicado y se confirmaron en distintos ensayos independientes. Los resultados obtenidos, muestran la capacidad de detección de los mutágenos directos empleados, obteniéndose una relación dosis/respuesta, medida en términos de una reducción de DT conforme se incrementaba la concentración del mutágeno. Adicionalmente, en este nuevo método, la cepa TA100 muestra un comportamiento diferenciado ante estos compuestos mutagénicos y las sustancias tóxicas probadas, frente a las que el DT se vio claramente incrementado e incluso fue inexistente, excepto con el hexano para el que se obtuvo actividad mutagénica. Por último, y conforme a lo esperado, la sustancia inócua no mostró diferencias en el DT obtenido respecto al control.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Estudio de la antimutagénesis de un extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* en células de *Salmonella typhimurium*

M. Ferrer^{1,2}, J.L. Fuentes², A. Sánchez-Lamar³, G. Fonseca³, M. Llagostera¹ ✉

¹ Grupo de Microbiología Molecular, Dpto de Genética y Microbiología, Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra 08193, Barcelona. ² Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear A.P. 6122, Calle 30 No. 502, esq. 5^{ta} Ave, Playa, C. Habana, Cuba. ³ Facultad de Biología, Universidad de la Habana, 25 y J, Vedado, C. Habana, Cuba

Se realizó el estudio de la Mutagénesis y Antimutagénesis de un extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* HBK Alegría, arbusto endémico de Cuba, mediante el Test de Ames. No se encontraron indicios de toxicidad ni mutagenicidad en las cepas TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102 y YG1024 de *Salmonella typhimurium* en el rango de concentraciones evaluado (de 0 a 4000 µg/placa).

Las propiedades antimutagénicas del extracto fueron claramente observadas frente a promutágenos. Mientras que para mutágenos directos estos efectos no fueron observados o fueron débiles, como es el caso de la antimutagénesis por nosotros encontrada frente al H₂O₂, que sugiere que el extracto pudiera funcionar en este caso como un agente antioxidante débil.

Como parte del estudio de los mecanismos por los cuales dicho extracto ejerce efecto antimutagénico, hemos evaluado el efecto del mismo sobre diferentes promutágenos, haciendo especial énfasis en las aminas aromáticas, cuya activación está muy bien estudiada, por lo que nos han servido para obtener valiosa información acerca de las interacciones extracto-promutágeno-sistema de activación metabólica. Con el uso de inhibidores de Cyt P450 y la inhibición de FMOs por calor, unido a modificaciones en el protocolo del ensayo empleando diferentes esquemas de Co-tratamiento, hemos intentado discernir las interacciones extracto-promutágeno/mutágeno o extracto-sistemas enzimáticos de la S9 tomando como promutágeno tipo el m-PDA.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Aislamiento, expresión y caracterización funcional de AtNTH1: un homólogo de la enzima reparadora endonucleasa III en la planta *Arabidopsis thaliana*

T. Roldán-Arjona, M. V. García-Ortiz, M. Ruiz-Rubio, y R. R. Ariza

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba, Avda. San Alberto Magno s/n. 14071, Córdoba, España

Las especies reactivas de oxígeno son capaces de inducir una gran variedad de daños en el ADN cuya reparación es esencial para prevenir mutaciones y muerte celular. En *Escherichia coli* las pirimidinas oxidadas son reparadas mayoritariamente mediante la ruta de reparación por escisión de bases, siendo la enzima endonucleasa III la encargada de reconocer y escindir la base dañada. Esta proteína posee actividad ADN glicosilasa además de actividad liasa de sitios apurínicos/apirimidínicos (AP liasa). Una búsqueda en las bases de datos identificó una secuencia genómica de *Arabidopsis thaliana* que codifica una proteína con una alta similitud de secuencia con la endonucleasa III de *E. coli*. Mediante el escrutinio de varias librerías de ADNc se ha obtenido un clon que contiene un marco abierto de lectura de 1062 pb. Dicho ADNc codifica una proteína de 354 aminoácidos y 39.1 kDa que contiene varios motivos conservados en otros homólogos de endonucleasa III, incluyendo el dominio de unión al complejo de hierro y azufre así como varios residuos críticos del sitio activo. La proteína, denominada AtNTH1, se sobreexpresó en *E. coli* y se purificó hasta homogeneidad. AtNTH1 tiene actividad ADN-glicosilasa en diferentes tipos de sustratos de ADN con daños en las pirimidinas, siendo capaz de liberar tanto urea como timin glicol de polidesoxirribonucleótidos de doble cadena. La enzima también posee actividad liasa de sitios apurínicos/apirimidínicos en sustratos irradiados con rayos γ y luz ultravioleta. El gen *AtNTH1* contiene 10 intrones y 11 exones, y genera un transcrito de aproximadamente 1,3 Kb cuya abundancia es muy baja y difícil de observar mediante análisis Northern. Para confirmar que *AtNTH1* se expresa *in vivo*, se realizó una RT-PCR usando ARN total de diferentes tejidos de *A. thaliana* y oligonucleótidos específicos. Los datos obtenidos indican que el gen se expresa en un rango muy amplio de tejidos de la planta incluyendo hojas de tallo, hojas de roseta, tallo, raíz y flores. Nuestros resultados sugieren que AtNTH1 es un homólogo estructural y funcional de la enzima endonucleasa III, y que probablemente tiene un papel importante en la defensa de las plantas frente al daño de tipo oxidativo en el ADN.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Identificación y aislamiento del gen que codifica la fotoliasa de *Fusarium oxysporum*

E. Alejandro-Durán, R.R. Ariza, T. Roldán-Arjona, M.D. Huertas-González y M. Ruiz-Rubio

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba

Los organismos vivos han tenido que desarrollar mecanismos de reparación y tolerancia para superar los efectos genotóxicos de la luz ultravioleta (UV). El principal tipo de lesión inducido por la luz UV en el ADN es el dímero de pirimidina tipo ciclobutano. La monomerización enzimática de los dímeros de pirimidina es catalizada por la fotoliasa. Esta enzima se une al dímero y a continuación, en presencia de luz, dos cromóforos no unidos covalentemente a la enzima absorben fotones en el rango de 300-500 nm y transfieren la energía al dímero, produciéndose la restauración inicial de los monómeros de pirimidina. Un cromóforo siempre es FADH₂ y el otro varía según el tipo de fotoliasa, pudiendo ser pterina o deazaflavina. Para el aislamiento del gen que codifica la fotoliasa del hongo *Fusarium oxysporum* se ha utilizado como sonda un fragmento BamHI-KpnI de 600 pb del gen que codifica dicha enzima en *Neurospora crassa*. El escrutinio se realizó en una librería genómica de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* construida en el vector λEMBL3. Se seleccionó uno de los clones positivos y se subclonó un fragmento Sall de 4 kb en pBluescript para secuenciarlo posteriormente. De la secuencia nucleotídica se deduce la presencia de un intrón y que se trata de una proteína de 645 aminoácidos. Esta enzima posee la secuencia IP cerca de la región amino-terminal, también presente en *N. crassa*, *E. coli* y *S. cerevisiae*, lo que indica que utiliza pterina como cromóforo. Al igual que las fotoliasas de levaduras y *N. crassa*, la de *F. oxysporum* poseen secuencias amino-terminales que están ausentes en bacterias. Es interesante hacer notar que la secuencia KKYYPR de la fotoliasa de levaduras es similar a RKFYPH de *N. crassa* y a RKFYPP de *F. oxysporum*, y se parece a la secuencia para el transporte al interior de la mitocondria de la leucil-ARNt sintetasa de *N. crassa*. Esto indica que esta señal podría ser necesaria para la translocación de la enzima al interior de la mitocondria.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Mecanismos de tolerancia a lesiones en plantas: identificación y caracterización de un homólogo vegetal de la ADN polimerasa Pol η

E. Alejandro-Durán y R.R. Ariza

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba, Avda. San Alberto Magno s/n. 14071, Córdoba, España

Entre las estrategias desarrolladas por las células para tolerar en su ADN la presencia de lesiones no reparadas destaca el proceso de síntesis translesión, que en muchos casos implica la incorporación de nucleótidos erróneos y da lugar a mutaciones en el genoma. Resultados obtenidos en microorganismos y células de mamífero indican que la clave de este fenómeno reside en ADN polimerasas especializadas capaces de replicar bases alteradas con distintos grados de fidelidad. Estas enzimas, que constituyen una superfamilia de ADN polimerasas relacionadas estructuralmente entre sí, pueden dividirse en 4 grupos tipificados por las proteínas UmuC y DinB de *E. coli* y Rev1 y Rad30 de *S. cerevisiae*. La proteína Rad30, también denominada Pol η (*eta*), es capaz de sobrepasar dímeros de timina tipo ciclobutano inducidos por luz UV, insertando correctamente dos adeninas enfrente de la lesión y evitando el bloqueo de la replicación del ADN sin necesidad de introducir mutaciones. Existe un homólogo de Pol η en la especie humana (hRad30) y su carencia da lugar a una de las formas de la enfermedad xeroderma pigmentosum, caracterizada por una alta incidencia de cáncer de piel. En claro contraste con los conocimientos adquiridos en otros organismos, los mecanismos de tolerancia a las lesiones en el ADN permanecen inexplorados en plantas. Mediante el escrutinio de una genoteca de la planta modelo *Arabidopsis thaliana* hemos identificado un ADNc que codifica un probable homólogo vegetal de Pol η . La proteína, denominada AtPol η , consta de 672 aminoácidos y está codificada por un gen con 13 intrones y 14 exones. La primera mitad de la secuencia de AtPol η muestra un alto grado de semejanza con el resto de los miembros de la familia. Las regiones conservadas incluyen un dominio N-terminal responsable de la actividad nucleotidil transferasa y dos dominios hélice-horquilla-hélice (HhH) en tandem, implicados en la unión al ADN. Actualmente se está procediendo a caracterizar, tanto *in vivo* como *in vitro*, la capacidad de AtPol η para replicar ADN dañado.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

***Arabidopsis thaliana* posee un homólogo estructural y funcional de la enzima 8-oxoguanina-ADN glicosilasa (AtOGG1)**

M.V. García-Ortiz, R. R. Ariza y T. Roldán-Arjona

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba, Avda. San Alberto Magno s/n. 14071, Córdoba, España

Una de las principales lesiones mutagénicas inducidas por especies reactivas de oxígeno es la 8-oxoguanina (8-oxoG), que aparea con adenina dando lugar a transversiones GC→TA. Mientras que en procariotas la 8-oxoG es eliminada del ADN por la ADN-glicosilasa MutM (también denominada Fpg) los organismos eucariotas emplean la ADN-glicosilasa OGG, un homólogo funcional pero no estructural de MutM. En *A. thaliana*, sin embargo, se ha descrito la presencia de un homólogo estructural y funcional de MutM denominado AtMMH y que puede haber evolucionado a partir de un gen ancestral de cianobacterias. En este trabajo se describe la clonación, el aislamiento y la expresión de un ADNc de *A. thaliana* que codifica una proteína de 365 aminoácidos con una secuencia muy similar a proteínas OGG de otros organismos eucariotas. La proteína vegetal, denominada AtOGG1, contiene residuos críticos altamente conservados del sitio activo y el motivo hélice-horquilla-hélice característico de la superfamilia de ADN glicosilasas. La expresión de AtOGG1 suprime totalmente el fenotipo mutador de una cepa de *E.coli* (*mutM*, *mutY*) deficiente en la reparación de 8-oxoG, lo que indica que la enzima AtOGG1 es capaz de iniciar la reparación de 8-oxoG *in vivo*, evitando las consecuencias mutagénicas de esta lesión. El gen *AtOGG1* consta de 3 exones y 2 intrones. Para determinar su patrón de expresión en distintos órganos de *Arabidopsis* se llevó a cabo una RT-PCR con oligonucleótidos específicos sobre ARNs procedentes de distintos tejidos de la planta. Los resultados obtenidos indican que *AtOGG1* se expresa en una gran variedad de tejidos incluidos hojas, tallos, raíces y flores. La sobreexpresión del ADNc en *E. coli* ha permitido purificar la proteína AtOGG1 hasta homogeneidad, lo que permitirá analizar *in vitro* su actividad reparadora de ADN y caracterizar su especificidad de sustrato. En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que *Arabidopsis thaliana* posee dos proteínas distintas capaces de reparar 8-oxoG (MutM y AtOGG1) siendo el primer organismo descrito hasta la fecha en el cual coexisten ambas actividades. Queda por determinar los papeles relativos de estas dos proteínas en la reparación de 8-oxoG en la planta.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Estudio de la mutación por inserción del elemento transponible FB-NOF en la región 3' del gen *white* de *Drosophila melanogaster* y su efecto en la interacción *zeste-white*

M. Badal, N. Xamena y O. Cabré

¹Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Se están estudiando las bases moleculares que producen el fenotipo mutante en las cepas M63 y M115 de *Drosophila melanogaster*, así como la reversión de dicho fenotipo en las cepas revertientes RM63 y RM115. Estas cepas son portadoras de la mutación *zeste-1* (z^1) pero los machos presentan ojos amarillo limón como las hembras en vez del color de ojos salvaje. Según se conoce en la interacción *zeste-white*, parecida al fenómeno de transvección, los machos portadores de un solo cromosoma X, deberían presentar ojos rojos. Las cepas revertientes, por el contrario, presentan el fenotipo esperado z^1 , es decir, hembras con ojos amarillos y machos salvajes para el color de los ojos.

Se ha comprobado que las cepas M63 y M115 son mutantes insercionales debido a la presencia del elemento transponible compuesto FB-NOF en el extremo 3' del gen *white* (*w*), fuera de la región codificante. El análisis mediante el método de Southern ofrece indicios de que las cepas revertientes, que aún mantienen el elemento FB, han perdido solamente el elemento NOF, produciendo la reversión del fenotipo mutante de un modo aún desconocido. Tanto las cepas mutantes M63 y M115 como las revertientes RM63 y RM115 son inestables en sus fenotipos y presentan variegación por efecto de posición (PEV) cuando se mantienen a temperaturas por debajo de 20°C. Mediante secuenciación directa de productos de PCR se ha determinado con exactitud el punto de inserción de FB-NOF y, por consiguiente, la repetición directa que acompaña a la inserción.

Así pues, este sistema de mutantes y revertientes nos permite estudiar el efecto de los elementos transponibles sobre el fenotipo, así cómo profundizar en el conocimiento de los mecanismos de interacción *zeste-white*, relacionados con los procesos de inactivación a gran escala producidos por los genes del grupo *polycomb*, claves en el control del desarrollo embrionario de *D. melanogaster*.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:

Efectos de la densidad larvaria y de la temperatura en el mutante insercional *white-buff* de *Drosophila melanogaster*

M. Rey, A. Velázquez, y N. Xamena

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Los elementos transponibles se hallan extendidos en todos los organismos y son una fuente importante de variabilidad genética. Si bien se han identificado algunos factores genéticos implicados en la promoción de la movilización de tales elementos, el posible papel de los factores ambientales en dicha movilización resulta controvertido. Mucho más controvertido es el efecto que puedan tener estos factores sobre la escisión del elemento o la inestabilidad generada en los mutantes insercionales. Los resultados de inducción de movilización de elementos transponibles mediante la acción de determinados agentes no son siempre reproducibles, como es el caso de la temperatura. Conocer el impacto que puedan tener los factores ambientales sobre el polimorfismo genético de las poblaciones es básico para ayudarnos a entender las consecuencias de las perturbaciones climáticas o tróficas sobre la supervivencia individual y la conservación de la biodiversidad.

En el presente trabajo pretendemos determinar los efectos del estrés ambiental, por competencia larvaria por el alimento y la temperatura, sobre un mutante insercional de *Drosophila melanogaster*: *white-buff* (w^{bf}), que en un trabajo previo había mostrado inestabilidad en la línea somática. Esta mutación se caracteriza por la presencia del retrotransposón *roo* inserto en el cuarto intrón del gen *white*. Para ello se ha sembrado un número diferente de huevos (50, 100, 200 y 500) en frascos de cultivo que contienen 10 ml de medio mantenidos a 25°C y a 29°C. Se determina la supervivencia para cada caso y se analizan los individuos adultos por la presencia de mosaicismo de color de ojos, con el fin de determinar el grado de reversión fenotípica somática obtenida en cada caso. Finalmente, a partir del DNA genómico de cada uno de los individuos adultos, se amplifica por PCR el punto de inserción de *roo* en w^{bf} . El producto amplificado se analiza por hibridación *Southern*.

Los valores de supervivencia y mosaicismo de ojos varían de un modo diferente con relación a la densidad larvaria y la temperatura. Asimismo, se observa un elevado grado de inestabilidad del elemento *roo* en la línea somática que se manifiesta como diferentes patrones de amplificación en los individuos.

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

NOTAS:



ÍNDICE DE AUTORES

A

Acebo, A.....	63
Acevedo, C.....	43
Alcaraz, M.....	43, 47
Alejandre-Durán, E.....	115, 117
Alguacil, J.....	21, 23
Almeida, E.....	69
Alonso, A.....	89
Alonzo, A.....	69, 71
Álvarez, L.....	85, 95
Amrani, S.....	87
Andreu, M.....	21
Araujo, M.....	81
Ariza, R.R.....	113, 115, 117, 119
Arrieta, I.....	61
Auncoin, D.....	53

B

Badal, M.....	121
Baluja, L.....	71, 97
Balls, M.....	27, 73
Barquinero, J.F.....	33, 35, 49
Barrios, L.....	33, 35
Becerril, C.....	77, 79
Benavente-García, O.....	47
Benavides, F.G.....	23
Blanco, M.....	99, 107

C

Caballín, M.R.....	33, 35
Cabré, O.....	121
Campos, J.....	89
Campos, P.....	43
Canteras, M.....	43, 47
Cápiro, N.....	71, 97
Carballo, N.....	63, 67
Carbonell, E.....	45
Carnesoltas, D.....	63

Carrato, A.....	21, 23
Carro, S.....	69
Castaño, A.....	77, 79
Castillo, J.....	47
Catalani, P.....	27
Ceccatelli, R.....	29
Cigarrán, S.....	33
Cocco, B.....	29
Comendador, M.A.....	85, 91, 93, 95
Contreras, N.....	63
Corominas, J.M.....	21
Cozzi, R.....	71
Creus, A.....	31, 39, 45, 59, 83, 87
Criado, B.....	61

D

Dávalos, M.V.....	37
De Salvia, R.....	71
Díaz-Valdés, N.....	85, 91
Duran, A.....	35

E

Edreira, A.....	75
Egozcue, J.....	33, 35, 49

F

Farrar, K.....	63
Fernández, L.....	25
Fernández, N.....	63, 65
Ferrer, M.....	71, 111
Ferro, M.T.....	41
Fiallo, F.....	37
Fiore, M.....	71
Fischbach, M.....	27
Flores, P.....	61
Fonseca, G.....	71, 97, 111
Fortaner, S.....	27, 29, 73
Fuentes, J.L.....	69, 71, 97, 111

G

Galofré, P.	39, 45
Gallardo-Madueño, R.	105
García-Orad, Á.	17, 51, 53
García-Ortiz, M.V.	113, 119
García-Peñalver, L.	109
García-Sagredo, J.M.	41
Garrido, M.J.	81, 109
Genescà, A.	49
Ghiani, M.	29
González, J.	63
González-Borroto, J.	83
Grimalt, J.	21
Guarner, L.	21, 23
Gutiérrez, S.	45

H

Hernando, J.	85, 93
Huertas-González, M.D.	115

J

Jariod, M.	21
-----------------	----

K

Kamal, J.	63
Kauppinen, T.	23
Kogevinas, M.	23

L

Leone, P.E.	37
López, M.A.	51
Lorente, J.	47
Lucero, L.	59

LL

Llagostera, M.	69, 71, 111
Llorente, M.T.	77

M

Malats, N.	21, 23
Manchado, M.	101, 103
Marcos, R.	25, 31, 39, 45, 59, 83, 87
Margineda, J.	43
Martín-Gíl, R.	43
Martínez, A.	107
Martínez, B.	61
Masramon, L.	19
Mazzotti, F.	29
Michán, C.	101, 103
Miró, R.	19, 49
Monje-Casas, F.	105
Moreno, D.	71

N

Natarajan, A.T.	13
Navas, S.	75
Nguyen, M.T.	63
Norppa, H.	15

O

Ortega, B.	61
Ortiz, T.	75
Ortiz-Lastra, E.	61

P

Partanen, T.	23
Pastor, S.	59
Paz y Miño, C.	37, 55
Peinado, M.A.	19
Peñagarikano, O.	61
Pérez, C.	37

Pérez, G.....	63
Pérez-Arnáez, G.....	63, 65, 67
Pietra, R.	27, 73
Piñeiro, E.	25
Piñero, J.	75
Poblete, S.	57
Ponsa, I.....	49
Porta, M.	21, 23
Prieto, E.	69
Prieto-Álamo, M.J.....	105
Puerto, S.....	31, 39
Pueyo, C.....	101, 103, 105
Puig, W.	63

R

Ramírez, M.J.....	31, 39
Real, F.X.	21, 23
Redondo, A.	47
Remigio, A.....	63, 65, 67
Rey, M.	123
Ribas, M.....	19, 33, 35
Rifà, J.	21, 23
Risques, R.A.	19
Rivero, Y.....	63, 65, 67
Rizki, M.	87
Rodríguez, M.J.....	17, 51
Rojas, M.M.	89
Roldán-Arjona, T.....	113, 115, 119
de la Rosa, M.E.....	97
Rudolff, I.....	57
Ruiz, L.	23
Ruiz-Rubio, M.	113, 115

S

Sabbioni, E.....	27, 29, 73
Sáinz, O.....	63
Salas, A.	21
Sánchez, M.E.	37
Sánchez-Hombre, M.C.	41

Bellaterra, 5-7 / julio / 2000

Sánchez-Lamar, A.	69, 71, 97, 111
Shore, K.	63
Sierra, L.M.	85, 91, 93, 95
Suárez, S.	81
Sueiro, R.A.	81, 109
Surrallés, J.	25, 31, 39

T

Télez, M.	61
Tosal, L.	85

U

Urios, A.	107
----------------	-----

V

Valle, I.	75
Velázquez, A.	25, 123
Venegas, W.	57
Vicente, V.	47
Vig, B.K.	17, 51, 53
Villalón, C.	41

X

Xamena, N.	121, 123
Xu, J.	63



DIRECTORIO DE PARTICIPANTES

A

Aguiar Santa Eugenia, Silvia

Departamento de Biología Funcional

Área de Genética

Universidad de Oviedo

C/ Julián Clavería, s/n

33006 Oviedo

Tel: 985103599

Fax: 985103534

E-mail: silviaag@correo.uniovi.es

Alañón Ribas, María del Pilar

C/ Daoiz i Velarde, 9, 2º, 2ª

08028 Barcelona

Tel: 934903918

E-mail: pilibio@hispavista.com

Alcaraz Baños, Miguel

Área de Radiología y Medicina Física

Facultad de Medicina

Universidad de Murcia

30100 Murcia

Tel: 968363601

Fax: 968345051

E-mail: mab@fcu.um.es

Alejandro Durán, Encarna

Departamento de Genética

Universidad de Córdoba

Avda San Alberto Magno, s/n

14071 Córdoba

Tel: 957761154

Fax: 957761297

E-mail: ge1aldue@uco.es

Alguacil Ojeda, Juan

Institut Municipal d'Investigació Mèdica
C/ Doctor Aiguader, 80
08003 Barcelona
Tel: 932257596
Fax: 932213237
E-mail: jalguacil@imim.es

Almeda Gayatín, María Lourdes

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: marialourdes.almeda@uab.es

Álvarez Fernández, Lidia

Departamento de Biología Funcional
Área de Genética
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería, s/n
33006 Oviedo
Tel: 985103599
Fax: 985103534
E-mail: laf@correo.unioni.es

Arbizu Suárez, Elena

Departamento de Biología Funcional
Área de Genética
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería, s/n
33006 Oviedo
Tel: 985103599
Fax: 985103534
E-mail: elearbiz@correo.uniovi.es

Arrieta Sáez, Isabel

Departamento de Biología Animal y Genética
Facultad de Ciencias
Universidad del País Vasco
Apdo. 644
48080 Bilbao
Tel: 946015409
Fax: 944648500
E-mail: ggparsai@lg.ehu.es

B

Badal Soler, Martí

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935811831
Fax: 935812387
E-mail: mbadal@einstein.uab.es

Barrueco Fdez-Cuervo, Carmen

Departamento de Toxicología Experimental. Genotoxicidad
Instituto de Salud Carlos III
Carretera Majadahonda-Pozuelo, km 2
28220 Majadahonda
Tel: 915097900
Fax: 915097926
E-mail: cbarrue@isciii.es

Benkhaled, Leila

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: leila.benkhaled@uab.es

Blanco Pérez, Manuel

FIVB, Instituto de Investigaciones Citológicas
Amadeo de Saboya, 4
46010 Valencia
Tel: 963391252
Fax: 963601453
E-mail: blanco@ochoa.fib.es

Borràs Suárez, Miquel

Facultat de Biologia
Universitat de Barcelona
Avda Diagonal, 645
08028 Barcelona
Tel: 934021503
Fax: 934110592
E-mail: fermenta@d3.ub.es

C

Cabré Fabrè, Oriol

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935811662
Fax: 935812387
E-mail: oriol.cabre@uab.es

Callén Moréu, Elsa

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: ecallen@einstein.uab.es

Cápiro Trujillo, Nancy

Departamento de Biología Vegetal

Facultad de Biología

Universidad de La Habana

La Habana, Cuba

Tel: 985103599

Fax: 985103534

E-mail: ncapiro@correo.uniovi.es

Carballo Velázquez, Nelson

CENPALAB

Finca Tirabeque

Carretera El Cacahual, km 2,5

Bejucal

La Habana, Cuba

Tel: 683 7225 579008

Fax: 683 7225 579320

E-mail: cetex@cepalab.inf.cu

Casaroli Marano, Ricardo Pedro

Facultat de Biologia

Universitat de Barcelona

Av. Diagonal, 645

08028 Barcelona

Tel: 934021538

Fax: 934112967

E-mail: casaroli@porthos.bio.ub.es

Castaño Viñals, Gemma

Institut Municipal d'Investigació Mèdica

Doctor Aiguader, 80

08003 Barcelona

Tel: 932211009

Fax: 932216448

E-mail: gcastano@imim.es

Castaño Calvo, Argelia

CISA-INIA
Carretera de Algete-El Casar
Valdeolmos
28130 Madrid
Tel: 916202300
Fax: 916202247
E-mail: castano@inia.es

Castillo Buitrago, Vernon

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935811831
Fax: 935812387
E-mail: vcastillo@einstein.uab.es

Céspedes Vigoya, Walkiria

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: wcispedes@einstein.uab.es

Cigarrán Valea, Sergio

Unitat d'Antropologia, BAVE
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812049
Fax: 935811321

Comendador García, Miguel Angel

Departamento de Biología Funcional
Área de Genética
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería, s/n
33006 Oviedo
Tel: 985104195
Fax: 985103534
E-mail: mac@correo.uniovi.es

Creus Capdevila, Amadeu

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812052
Fax: 935812387
E-mail: amadeu.creus@uab.es

D

Delgado Sureda, Eulàlia

Facultat de Biologia
Universitat de Barcelona
Avda Diagonal, 645
08028 Barcelona
Tel: 934021450
Fax: 934035740
E-mail: edelgado@porthos.bio.ub.es

Díaz-Valdés Farray, Nancy

Departamento de Biología Funcional
Área de Genética
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería, s/n
33006 Oviedo
Tel: 985103599
Fax: 985103534
E-mail: nancy@correo.uniovi.es

Domingo Galán, Alberto

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Universidad de Alcalá
Campus Universitario
28871 Alcalá de Henares
Tel: 918854520
Fax: 918829502
E-mail: alberto.domingo@uah.es

Duran Puig, Assumpta

Unitat d'Antropologia, BAVE
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812049
Fax: 935811321
E-mail: Assumpta.Duran@uab.es

F

Fernández López, Laura

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: lfernandez@einstein.uab.es

Ferrer Pérez, Mirle

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935813013
Fax: 935812387
E-mail: ibmi0@cc.uab.es

Fortaner Torrent, Salvador

EC, IHCP, ECVAM Unit, JRC
Via Enrico Fermi, 1
21020 Ispra, Italia
Tel: 390332785079
Fax: 390332785994
E-mail: salvador.fortaner@jrc.it

Fuentes Lorenzo, Jorge Luís

Departamento de Radiobiología
CEADEN
La Habana, Cuba
Tel: 537221518
Fax: 537241188
E-mail: fuentes@ceaden.edu.cu

G

García Orad, África

Universidad del País Vasco
Barrio Sarriena, s/n
48940 Lejona
Tel: 946012909
Fax: 944649266
E-mail: gcpgacaa@lg.ehu.es

García Sagredo, José Miguel

Servicio de Genética Médica
Hospital Ramón y Cajal
28034 Madrid
Tel: 913368334
Fax: 913369016
E-mail: jgarcias@hrc.insalud.es

García Peñalver, Laura

Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios
Universidad de Santiago
Campus Sur, s/n
15706 Santiago de Compostela
Tel: 981563100
Fax: 981547171
E-mail: mplgpl@usc.es

García Ortíz, María Victoria

Departamento de Genética
Universidad de Córdoba
Avda San Alberto Magno, s/n
14071 Córdoba
Tel: 957761154
Fax: 957761297
E-mail: b42gaorm@uco.es

Gómez Urdiain, Ana Puy

Departamento de Biología Funcional
Área de Genética
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería, s/n
33006 Oviedo
Tel: 985103599
Fax: 985103534
E-mail: anapuy@correo.uniovi.es

González Borroto, Jorge

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: jgonzalez@einstein.uab.es

Guillamet Cros, Emma

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: eguillamet@einstein.uab.es

Gutiérrez Enríquez, Sara

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: sgutierrez@einstein.uab.es

H

Hernando Gastañares, Julia

Departamento de Biología Funcional
Área de Genética
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería, s/n
33006 Oviedo
Tel: 985103599
Fax: 985103534
E-mail: jhg@correo.uniovi.es

L

León, Pedro

Centro de Investigación de Biología Molecular
Universidad de Costa Rica
San José, Costa Rica
Tel: 5062073204
Fax: 5062073190
E-mail: pela@cariari.ucr.ac.cr

López Castel, Arturo

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935811831
Fax: 935812387
E-mail: alopez@einstein.uab.es

LL

Llagostera Casas, Montserrat

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935813013
Fax: 935812387
E-mail: mllagostera@einstein.uab.es

Llorente Rodríguez, María Teresa

CISA-INIA
Carretera de Algete-El Casar
Valdeolmos
28130 Madrid
Tel: 916202300
Fax: 916202247
E-mail: mteresa@inia.es

M

Malats Riera, Núria

Institut Municipal d'Investigació Mèdica
Doctor Aiguader, 80
08003 Barcelona
Tel: 932211009
Fax: 932213237
E-mail: nuria@imim.es

Marcos Dauder, Ricard

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812052
Fax: 935812387
E-mail: ricard.marcos@uab.es

Mazzotti, Francesca

EC, IHCP, ECVAM Unit, JRC
Via Enrico Fermi, 1
21020 Ispra, Italia
Tel: 390332785553
Fax: 390332785336
E-mail: francesca.mazzotti@jrc.it

Monnà Cano, Alex

Facultat de Biologia
Universitat de Barcelona
Av. Diagonal, 645
08028 Barcelona
Tel: 934034545
Fax: 934112967
E-mail: amonna@ibg.ub.es

Morillas Martínez, María José

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: mjmorillas@einstein.uab.es

Muñoz Bellas, Cristina

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: cmunoz@einstein.uab.es

N

Natarajan, Adayapalam T.

Department of Radiation Genetics and Chemical Mutagenesis
Leiden University
Leiden, Holanda
Tel: 31715276164
Fax: 31715221615
E-mail: natarajan@RULLF.medfac.leidenuniv.nl

Norppa, Hannu

Finnish Institute of Occupational Health
Topeliuksenkatu, 41 a A
00250 Helsinki, Finlandia
Tel: 35894747336
Fax: 35894747208
E-mail: hannu.norppa@occuphealth.fi

P

Pastor Benítez, Susana

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: spastor@einstein.uab.es

Paz y Miño Cepeda, César

Departamento de Ciencias Biológicas
Pontificia Universidad Católica del Ecuador
P.O. Box 17-1-2184
Quito, Ecuador
Tel: 5932565627
Fax: 5932509680
E-mail: cpazymino@puceuio.puce.edu.ec

Peinado Morales, Miguel Angel

Institut de Recerca Oncològica
Hospital Duran i Reynals
Autovía Castelldefels, km 2,7
08907 Hospitalet del Llobregat
Tel: 932607775
Fax: 932607776
E-mail: mpeinado@iro.es

de la Peña Alonso, Eduardo

Universidad SEK
C/ Claudio Moreno, 1, 6^a
40004 Segovia
Tel: 616838963
E-mail: edupenya@hotmail.com

de la Peña de Torres, Eduardo

Centro de Ciencias Medioambientales
CSIC
Serrano, 115 dpdo
28006 Madrid
Tel: 915625020
Fax: 915640800
E-mail: epena@ccma.csic.es

Pérez Machado, Giselle

Universidad de las Villas
Carretera a Camajuaní, km 5,5
Santa Clara, Cuba
Tel: 5342281473
Fax: 5342281130
E-mail: giselle67_es@yahoo.es

Piñeiro Muelas, Elisabet

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: epineiro@einstein.uab.es

Piñero Bustamante, Joaquín

Facultad de Biología
Universidad de Sevilla
Avda. Reina Mercedes, s/n
41012 Sevilla
Tel: 945557039
Fax: 954610261
E-mail: pinero@cica.es

Pitarque Martí, Marià

Division of Molecular Toxicology
Institute of Environmental Medicine
Karolinska Institutet
Box 210
17177 Stockholm, Suecia
Tel: 4687287742
Fax: 468337327
E-mail: maria.pitarque@imm.ki.se

Ponsa Arjona, Immaculada

Dept. Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia
Facultat de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935811175
Fax: 935811025
E-mail: iponsa@servet.uab.es

Porta Serra, Miquel

Unitat d'Epidemiologia Clínica i Molecular del Càncer
IMIM/UAB
Doctor Aiguader, 80
08003 Barcelona
Tel: 932257553
Fax: 932213237
E-mail: mporta@imim.es

Prieto Alamo, María José

Departamento de Bioquímica
Universidad de Córdoba
Edificio C-6
Campus Rabanales
Carretera Madrid-Cádiz, km 396 A
14071 Córdoba
Tel: 957218082
Fax: 957218688
E-mail: bb2pralm@uco.es

Puerto Navarro, Silvia

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: spuerto@einstein.uab.es

Pueyo de la Cuesta, Carmen

Departamento de Bioquímica
Universidad de Córdoba
Edificio C-6
Campus Rabanales
Carretera de Madrid-Cádiz, km 396 A
14071 Córdoba
Tel: 957218695
Fax: 957218688
E-mail: bb1pucuc@uco.es

R

Ramírez de Haro, María José

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: mjramirez@einstein.uab.es

Remigio Montero, Antonia de la Caridad

CENPALAB
Finca Tirabeque
Carretera El Cacahual, km 2,5
Bejucal
La Habana, Cuba
Tel: 6837225579008
Fax: 6837225579320
E-mail: cetex@cenpalab.inf.cu

Rey Agustí, Marta

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935811831
Fax: 935812387
E-mail: mrey@einstein.uab.es

Rizki, Mostapha

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: mrizki@einstein.uab.es

Rodríguez Tojo, María José

Universidad del País Vasco
Barrio Sarriena, s/n
Lejona
Tel: 944157093
Fax: 935812387
E-mail: mariar_es@yahoo.com;mariar@unr.edu

Rojas Molina, María del Mar

Departamento de Genética
Universidad de Córdoba
Avda San Alberto Magno, s/n
14071 Córdoba
Tel: 957761154
Fax: 957761297
E-mail: b32marom@uco.es

Roldán Arjona, Maite

Departamento de Genética
Universidad de Córdoba
Avda. San Alberto Magno, s/n
14071 Córdoba
Tel: 957761154
Fax: 957761297
E-mail: ge2roarm@uco.es

Royo Bagues, Teresita

Facultat de Biologia
Universitat de Barcelona
Av. Diagonal, 645
08028 Barcelona
Tel: 934021538
Fax: 934112967
E-mail: teresita@porthos.bio.ub.es

Ruiz Jara, Cristina

C/ Florencio Vives, 10bis, bajos, 1ª
43002 Tarragona
Tel: 977231685
E-mail: brj@tinet.fut.es

S

Sabbioni, Enrico

EC, IHCP, ECVAM Unit, JRC
Via Enrico Fermi, 1
21020 Ispra, Italia
Tel: 390332789070
Fax: 390332785994
E-mail: enrico.sabbioni@jrc.org

Salazar Ibáñez, Lorena

Lagun-Aro Servicios, S. Coop
Pº de D. José Mª Arizmendiarieta, 1
20500 Mondragón
Tel: 943790100
Fax: 943798080
E-mail: lsalazar@lagunaro.es

Sánchez Lamar, Ángel

Facultad de Biología
Universidad de La Habana
La Habana, Cuba
Tel: 537329252
Fax: 537321321
E-mail: alamar@fbio.oc.uh.cu

Sierra Zapico, María

Departamento de Biología Funcional
Área de Genética
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería, s/n
33006 Oviedo
Tel: 985103889
Fax: 985103534
E-mail: lmsierra@correo.uniovi.es

Suárez Figueras, Susanna

Instituto de Investigación e Análises Alimentarias
Campus Sur, s/n
15706 Santiago de Compostela
Tel: 981563100
Fax: 981547171
E-mail: ssuarez@usc.es

Surrallés Calonge, Jordi

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935811597
Fax: 935812387
E-mail: jordi.surralles@uab.es

T

Télez Sedano, Mercedes

Departamento de Biología Animal y Genética
Facultad de Ciencias
Universidad del País Vasco
Apdo. 644
48080 Bilbao
Tel: 946015409
Fax: 944648500
E-mail: ggbtesem@lg.ehu.es

Tusell Padrós, Laura

Dept. Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia
Facultat de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935811175
Fax: 935811025
E-mail: ltusell@servet.uab.es

U

Umbert Maestre, Glòria

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935812597
Fax: 935812387
E-mail: gumbert@einstein.uab.es

V

Velázquez Henar, Antonia

Departament de Genètica i de Microbiologia
Facultat de Ciències
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra
08193 Bellaterra
Tel: 935813111
Fax: 935812387
E-mail: antonia.velazquez@uab.es

Venegas Soto-Aguilar, Waldo

Departamento de Biología Molecular
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción
Concepción, Chile
Tel: 5641223949
Fax: 5641239687
E-mail: wvenegas@udec.cl

Vig, Baldev K.

Department of Biology
College of Arts and Science
University of Nevada
Reno, USA
Tel: 7027846188
Fax: 7027841302
E-mail: vig@unr.edu

Villanueva Belmonte, Cristina

Institut Municipal d'Investigació Mèdica

Doctor Aiguader, 80

08003 Barcelona

Tel: 932257592

Fax: 932216448

E-mail: cvillanueva@imim.es

X

Xamena López, Noel

Departament de Genètica i de Microbiologia

Facultat de Ciències

Universitat Autònoma de Barcelona

Campus de Bellaterra

08193 Bellaterra

Tel: 935812731

Fax: 935812387

E-mail: noel.xamena@uab.es

SEMA 2000

