Universidad de Oviedo

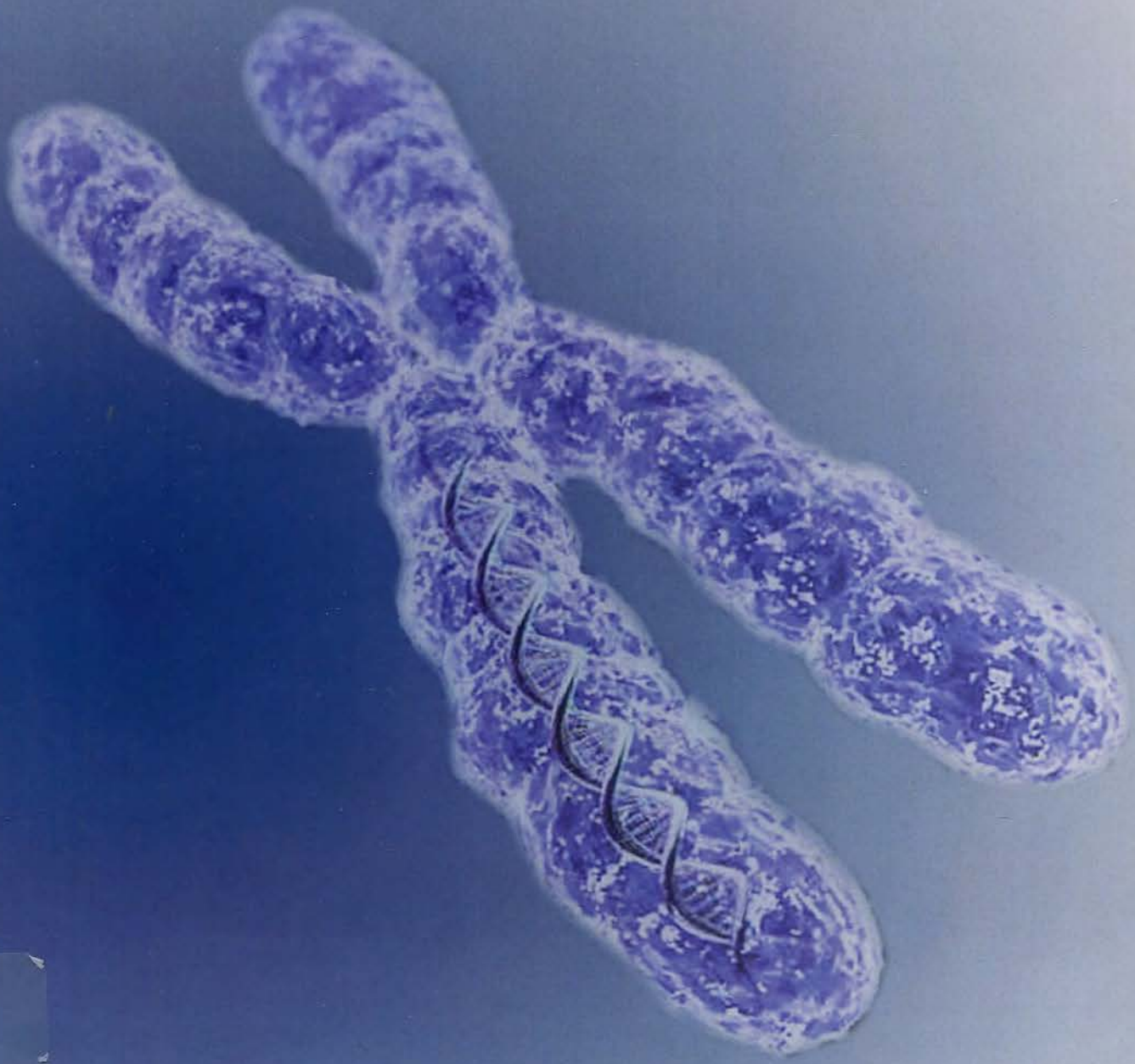
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGENESIS AMBIENTAL

INSTITUTO UNIVERSITARIO DE ONCOLOGIA

OBRA SOCIAL CAJASTUR

# IV REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGÉNESIS AMBIENTAL

## OVIEDO 20-22 JULIO 2005



Universidad de Oviedo

INSTITUTO UNIVERSITARIO DE ONCOLOGIA del Principado de Asturias
OBRA SOCIAL CAJASTUR

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGENESIS AMBIENTAL

# XIV REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGÉNESIS AMBIENTAL

**OVIEDO, 20, 21 y 22 DE JULIO DE 2005**

**FACULTAD DE BIOLOGÍA, CAMPUS DEL CRISTO**

***Organiza: Grupo de Mutagénesis Ambiental de la Universidad de Oviedo***

## ÍNDICE

## PRESENTACIÓN

El Grupo de Mutagénesis Ambiental de la Universidad de Oviedo, en nombre de la Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental (SEMA), os da la bienvenida a la XIV Reunión Científica de la Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental, y os expresa nuestro deseo de que durante vuestra estancia en Oviedo todo os resulte propicio, tanto desde el punto de vista científico como personal. Con esa esperanza hemos preparado el programa de nuestra reunión anual.

## COMISIÓN ORGANIZADORA

Miguel Ángel Comendador García. Presidente

L. María Sierra Zapico. Secretaria

José Antonio Ferreiro Ríos. Tesorero

Lydia Álvarez Fernández. Vocal

Esther Uriol Egido. Vocal

Ignacio Sancho Martínez. Vocal

Leticia Aguado Ortiz. Vocal

Ana Pérez García. Vocal

Olaya Álvarez Valles. Vocal

## COMITÉ CIENTÍFICO

Encarna Alejandre Durán. Universidad de Córdoba

Isabel Arrieta Sáez. Universidad del País Vasco

Miguel Ángel Comendador. Universidad de Oviedo

Amadeu Creus Capdevila. Universidad Autónoma de Barcelona

Ricard Marcos Dauder. Universidad Autónoma de Barcelona

Eduardo de la Peña de Torres. CSIC Centro de Ciencias Medioambientales

Joaquín Piñero Bustamante. Universidad de Sevilla

Carmen Pueyo de la Cuesta. Universidad de Córdoba

Luisa María Sierra Zapico. Universidad de Oviedo

Jordi Surrallés Calonge. Universidad Autónoma de Barcelona

## ENTIDADES Y ORGANISMOS COLABORADORES

Vicerrectorado de Investigación y Relaciones con la Empresa. Universidad de Oviedo

Consejería de Educación. Principado de Asturias

Vicerrectorado de Extensión Universitaria. Universidad de Oviedo

Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental

Caja España de Ahorros e Inversiones

Asociación Española de Toxicología (AETOX)

Red Española de Métodos Alternativos a la Experimentación Animal (REMA)

DISMED, S.A.

IZASA, S.A.

## SEDE DE LA REUNIÓN

Salón de Grados de la Facultad de Biología

C/ Catedrático Rodrigo Uría s/n

Campus del Cristo B

33006 Oviedo

# PROGRAMA CIENTÍFICO

**PROGRAMA**

**Miércoles 20**

11.00-12.00 ***Entrega de documentación***

12.00-12.30 ***Inauguración oficial del Congreso***

12.30-14.00 **CONFERENCIA INVITADA**
**Moderador:** Dr. Miguel Ángel Comendador. Universidad de Oviedo

**"Genética y biología molecular de la Anemia de Fanconi: funciones duales de la ruta Fanconi/BRCA"**
Surrallés J., Bogliolo M., Callén E., Cappelli E., Castellà M., Creus A., Lyakhovich A., Marcos R., Ramírez M.J.
Universidad Autónoma de Barcelona

14.00- 15.30 ***Comida***

15.30- 17.00 **SESIÓN 1:** ***Biomonitorización de poblaciones expuestas***
**Moderador:** Dra. L. María Sierra
Dr. Ricard Marcos

15.30- 15.50 **"Frecuencia de intercambios entre cromátidas hermanas en individuos infectados por *Helicobacter pylori*"**
Suárez S., Sueiro R.A., Garrido J., Pardiñas M.C., Menéndez M.D. y Álvarez Á.
Universidad de Santiago de Compostela

15.50-16.10 **"Los SCE como marcadores de genotoxicidad de fármacos antihipertensivos: estudios *in vivo* en pacientes hipertensos antes y después de iniciado el tratamiento farmacológico"**
Ramírez J.M., Joven A., Télez M., Peñagarikano O., Valverde L., Flores P., Ugarte C., Arrieta I.
Universidad del País Vasco y Servicio Vasco de Salud *Osakidetza.*

16.10- 16.30 **"Determinación de la posible capacidad genotóxica de fármacos antihipertensivos *in vivo*: análisis de MN en pacientes antes y después de iniciado el tratamiento farmacológico"**
Joven A., Ramírez J.M., Télez M., Peñagarikano O., Valverde L., Flores P., Ugarte C., Arrieta I.
Universidad del País Vasco y Servicio Vasco de Salud *Osakidetza.*

16.30- 17.10 **SESIÓN 2:** ***Polimorfismos genéticos y riesgo***
**Moderador:** Dra. Maite Roldán
Dr. Eduardo de la Peña

16.30- 16.50 **"Susceptibilidad al cáncer de tiroides ligada a la región 1p13.1"**

Baida A., González E.R., Galofré P., Marcos R., Velázquez A.
Universidad Autónoma de Barcelona y Hospital Josep Trueta, Girona

16.50-17.10 **"Caracterización de polimorfismos en el gen *hGSTO1* en poblaciones de Chile y España"**
Paiva L., Hernández A., Creus A., Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona

17.10-17.40 ***Café***

17.40- 18.40 **SESIÓN 2: Continuación**

17.40- 18.00 **"Polimorfismos en genes de reparación y cáncer de tiroides"**
Pérez Machado G., Hernández A., Marcos, R.
Universidad Autónoma de Barcelona

18.00- 18.20 **"Variación genotípica de los genes *TP53*, *GSTM1* y *GSTT1* en familias de pacientes con tumores múltiples"**
Pérez A., Álvarez O., Díaz S., Sierra L.M., Comendador M.A., López M.L., Ferreiro J.A.
Universidad de Oviedo

18.20-18.40 **"Análisis molecular de los exones 10 y 11 de *BRCA2* en familias de pacientes con cáncer múltiple"**
Álvarez O., Pérez A., Díaz S., Comendador M.A., Sierra L.M., López M.L., Ferreiro J.A.
Universidad de Oviedo

19.30- ***Visita guiada por la ciudad de Oviedo***

**Jueves 21**

9.00-11.00 **SESIÓN 3: *Reparación del DNA: genes, niveles de expresión y mecanismos***
**Moderador:** Dr. Susanna Suárez
Dr. Amadeu Creus

9.00- 9.40 **"Mecanismos moleculares de reparación y tolerancia al daño en el ADN"**
Roldán-Arjona T., Ariza R.R., García-Ortiz M.V., Morales-Ruiz T., Ortega-Galisteo A.P., Matesanz R.D., Martínez-Macías M.I, Ponferrada M.I.
Universidad de Córdoba

9.40- 10.00 **"Síntesis de ADN sobre moldes imperfectos: papel de la ADN polimerasa ATPOLK de *Arabidopsis thaliana*"**
García-Ortiz M.V., Ariza R.R. y Roldán-Arjona T.
Universidad de Córdoba

10.00- 10.20 **"Identificación y caracterización de la ADN polimerasa ATPOLQ de *Arabidopsis thaliana*"**

Matesanz R., García-Ortiz M.V., Roldán-Arjona T. y Ariza R.R.
Universidad de Córdoba

10.20- 10.40 **"Caracterización de una ADN glicosilasa que participa en la desmetilación y reactivación de genes silenciados en la planta modelo *Arabidopsis thaliana*"**
Morales-Ruiz T., Ponferrada-Marín M.I., Martínez-Macías M.I., Ariza R.R., Roldán-Arjona, T.
Universidad de Córdoba

10.40- 11.00 **"Una familia de ADN glicosilasas implicadas en el control epigenético de la expresión génica en *Arabidopsis thaliana*"**
Ortega-Galisteo A., Morales-Ruiz T., Martinez-Macias M.I., Ponferrada-Marin M.I., García-Ortíz M.V., Ariza R.R., Roldán-Arjona, T.
Universidad de Córdoba

11.00-11.30 ***Café***

11.30- 12.30 **SESIÓN 3 (cont.)**

11.30- 11.50 **"El sistema de tolerancia BTM participa en el procesamiento y/o reparación de los daños inducidos por streptozotocina"**
Sancho, I., Comendador, M. A., Sierra, L. M.
Universidad de Oviedo

11.50.12.10 **"La longitud telomérica como factor modulador del daño genético"**
Moreno J., Castellà M., Puerto S., Surrallés J., Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona

12.15- 13.45 **CONFERENCIA INVITADA**
**Moderador:** Dr. José Antonio Ferreiro. Universidad de Oviedo

**"Chromatin remodelling and nucleotide excision repair in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*"**
Waters R., Yu Y., Teng Y., Liu H., and Reed S. H.
Cardiff University

13.45-15.30 ***Comida***

15.30- 17.15 **SESIÓN 4: *Inestabilidad genética y mutación***
**Moderador:** Dra. Carmen Pueyo
Dr. José Antonio Ferreiro

15.30- 16.10 **"Drosophila: un modelo para el estudio de la inestabilidad genómica"**
López A., Baida A., Akdi M., Marcos R., Velázquez A.
Universidad Autónoma de Barcelona

16.10- 16.30 **"Influencia del sistema de reparación de apareamientos erróneos en la actividad de gemcitabina sobre la inestabilidad de microsatélites"**

Álvarez, L., Comendador, M.A., Sierra, L.M.
Universidad de Oviedo

16.30- 16.50 **"Una duplicación en tándem del gen *white* es responsable de los cambios fenotípicos en dos cepas *zeste*[1] de *Drosophila melanogaster*"**
Badal M., Portela A., Cabré O., Xamena N.
Universidad Autónoma de Barcelona

16.50- 17.10 **"Efecto de la inserción del elemento transponible *FB-NOF* sobre la expresión de *white* y de su vecino inmediato *CG32795*"**
Portela A., Badal M., Xamena N., Cabré O.
Universidad Autónoma de Barcelona

17.10-17.30 ***Café***

17.30- 19.15 **SESIÓN 5:** ***Genómica y daño en el DNA***
**Moderador:** Dra. Antonia Velázquez
Dr. Miguel Ángel Comendador

17.30- 18.00 **"Biomarcadores de expresión génica en estudios medioambientales con la especie aborigen *Mus spretus*"**
Pueyo C., Ruiz-Laguna J., Prieto-Álamo M.J., López-Barea J., Abril N.
Universidad de Córdoba

18.00- 18.30 **"Biomarcadores de expresion proteica en estudios ambientales"**
López-Barea J., Alhama J., Ballesteros J., Bonilla D., Montes R., Romero A., Vioque A.
Universidad de Córdoba

18.30- 18.50 **"Patrones de expresión génica de enzimas destoxificadoras de EROS y metalotioneínas en ratón"**
Prieto-Álamo M.J., Osuna-Jiménez I., Cabrera-Luque J.M., Pueyo C.
Universidad de Córdoba

18.50- 19.10 **"Estudios de expresión génica en ratones tratados *in vivo* con arsénico"**
Hernández A., Creus A., Xamena N., Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona

19.15-19.45 ***Asamblea anual de la Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental***

20.30- ***Espicha***

**Viernes 22**

9.30-10.40 **SESIÓN 6:** ***Genotoxicidad, ecogenotoxicidad y antigenotoxicidad***
**Moderador:** Dra. Isabel Arrieta
Dr. Rafael Rodríguez Ariza

9.30- 9.50 **"Evaluación mutagénica y ecotoxicológica de muestras de residuos de depuradora de utilidad en agronomía"**
Herrero O., Fernández J.M., Hernández D., Montes P., Polo A., de la Peña E.
Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC

9.50- 10.10 **"Estimación de la genotoxicidad de ciclofosfamida y metotrexato in vivo en células somáticas de *D. melanogaster*, mediante la combinación de los ensayos del cometa y SMAR *w/w*"**
Uriol E., Comendador M.A. y Sierra L.M.
Universidad de Oviedo

10.10- 10.30 **"Evaluación genotóxica de derivados furiletilénicos y nitrofuranos utilizando el ensayo del cometa en células linfoblastoides humanas"**
González Borroto J., Pérez Machado G., Creus A., Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona

10.30- 10.50 **"Genotoxicidad de gemcitabina in vivo en *Drosophila melanogaster*"**
Fernández, R., Sancho, I., Fernández, L.P., Uriol, E., Aguado, L., Comendador, M.A., Sierra, L.M.
Universidad de Oviedo

10.50- 11.10 **"Estudio de la genotoxicidad de algunos compuestos de platino mediante la técnica del cometa"**
Guillamet E., Creus A., Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona

11.10-11.40 ***Café***

11.40-12.30 **SESIÓN 6 (cont.)**

11.40- 12.00 **"Ensayos *in vitro* de mutación génica en células de mamífero. El ensayo de linfoma de ratón (MLA)"**
Soriano C., Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona

12.00- 12.20 **"Genotoxicidad en el ratón de campo (*Apodemus sylvaticus*) expuesto a fuentes complejas de contaminación"**
de Lapuente J., Acosta M., Delgado E., Torres M., Ripoll A., González-Linares J., Cruz R. y Borràs M.
Parque Científico de Barcelona y Universidad de Barcelona

12.30- 14.00 **CONFERENCIA INVITADA**
**Moderador:** Dra. L. María Sierra. Universidad de Oviedo

**"The *IARC Monographs* and carcinogenic hazard evaluations"**
Baan R.A.
International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon

14.00- 14.30 ***Acto de clausura***

14.30-16.00 ***Comida***

16.00- ***Visita al Museo de la Minería***

# RESÚMENES DE CONFERENCIAS

## GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA ANEMIA DE FANCONI: FUNCIONES DUALES DE LA RUTA FANCONI/BRCA

Surrallés J., Bogliolo M., Callén E., Cappelli E., Castellà M., Creus A., Lyakhovich A., Marcos R., Ramírez M.J.
Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

Fanconi anaemia (FA) is a rare genetic disease characterized by progressive anaemia, birth defects, chromosome fragility and a high predisposition to cancer, including leukaemia and solid tumours. The frequency of carriers is about 1/300, but it increases in consanguineous ethnical groups such as the Spanish gypsies with a carrier frequency of 1/65 (1). At least 11 genes are involved in this disease and their products interact in the so called FA/BRCA pathway of genome stability and tumour suppression. In addition, FA proteins interact with a number of proteins involved in other chromosome fragility syndromes in a complex network of genome stability pathways (2). These syndromes include Bloom, Seckle and Nijmegen breakage síndromes, ataxia telangiectasia and breast cancer susceptibility BRCA1 and BRCA2. Here I will summarize our recent findings on the molecular biology and dual functions of the FA/BRCA pathway. Our biochemical, immunocytochemical and YFP-tagged FANCD2 time lapse confocal data suggest that this pathway is activated not only by interstrand cross-links but also by UVC-induced stalled replication forks in a highly regulated manner. We will also provide genetic and chromatin immunoprecipitation results suggesting that histone H2AX is a novel component of the FA/BRCA pathway downstream FANCD2 activation as cells from H2AX KO mice or expressing a non-phosphorylable H2AX (i) fail to relocate FANCD2 to the site of damage and (ii) show a FA like phenotype. Resembling other genome stability syndromes (3), FA cells show a telomere defect (4). Our recent data based on RNA interference, immunohistochemistry and chromatin immunoprecipitation in telomerase positive and negative (ALT) inmortal cells and in primary cells suggest a novel molecular role for FANCD2 in telomere maitenance by recombination.

(1) Callén et al., Blood, 2005
(2) Surrallés et al., Genes and Development, 2004
(3) Callén and Surrallés, Mutation Research Reviews, 2004
(4) Callén et al., Human Molecular Genetics, 2002

## NOTAS:

## CHROMATIN REMODELLING AND NUCLEOTIDE EXCISION REPAIR IN THE YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Waters R., Yu Y., Teng Y., Liu H., and Reed S. H.
Department of Pathology, School of Medicine, Cardiff University, Heath Park, Cardiff CF14 4XN, UK

We employ the *MFA2* mating type locus as a model to examine relationships between NER and chromatin remodelling. *MFA2* is repressed in α haploid cells and transcribed in ***a*** mating type. With α cells chromatin immunoprecipitation shows Lys9 and/or Lys14 of histone H3, but not the relevant sites of histone H4 in two nucleosomes at the repressed *MFA2* promoter are hyperacetylated following UV. This histone hyperacetylation diminishes as repair proceeds. Accompanying this, chromatin in the promoter becomes more accessible to restriction following UV and returns to the pre-UV state gradually. UV-related histone hyperacetylation and chromatin remodelling in this promoter are dependent on Gcn5p and partially on Swi2p respectively. Deletion of *GCN5*, but not of *SWI2* impairs only the local repair of DNA damage. These post-UV chromatin remodelling events do not require damage recognition by Rad4p or Rad14p. However, in *rad4/rad14* NER defective mutants the remodelled chromatin does not return to its pre-UV status. Intriguingly, although Gcn5p also has a role in transcription of *MFA2* in ***a*** cells (the *gcn5*Δ has only 20% of wild-type *MFA2* mRNA), when Gcn5p functions during repair of the repressed *MFA2* there is no transcription. These experiments suggest a whole spectrum of gene products exists that can influence DNA repair and whose activity will be important for efficient NER.

I will describe the technologies we have developed, the results obtained plus how they impinge on chromatin remodelling for the genome overall. Finally I will consider the implications for risk factors.

## NOTAS:

## THE *IARC MONOGRAPHS* AND CARCINOGENIC HAZARD EVALUATIONS

Baan R.A.
Carcinogen Identification and Evaluation Group. WHO - International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, France

The *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* are published by the World Health Organization's International Agency for Research on Cancer (IARC) in Lyon, France. Each *Monograph* represents the consensus of an international Working Group of expert scientists. The *Monographs* include a critical review of the pertinent peer-reviewed scientific literature as the basis for an evaluation of the weight of the evidence that an agent may be carcinogenic to humans. Since its inception in 1969, the scope of the *Monographs* has expanded beyond chemicals to include complex mixtures, occupational exposures, lifestyle factors, physical and biological agents, and other potentially carcinogenic exposures. In the first 91 *Monograph* volumes, nearly 900 agents, mixtures, and exposures have been evaluated. Among these, more than 100 have been characterized as *carcinogenic to humans*, about 70 as *probably carcinogenic to humans*, and 240 as *possibly carcinogenic to humans*.

Carcinogen identification as conducted by the *IARC Monographs Programme* is an exercise in hazard identification, which determines whether exposure to an agent is linked to an increased incidence of human cancer. It is distinct from estimating human dose-response functions, predicting future human exposures, or characterizing the risk from current or future human exposures. These tasks are beyond the current scope of the Monographs.

The *IARC Monographs* are cancer hazard evaluations that provide the scientific support for public health measures implemented by many national and international health agencies around the world. The process for developing the *Monographs* is reviewed and updated from time to time. An important development in the process of evaluating cancer hazards is the consideration of mechanistic data, which can give insight into the mode of action of a presumed carcinogen and its role in the etiology of cancer.

The recent developments in molecular cancer biology and cancer genetics will certainly have an impact on the process of cancer hazard evaluation. The IARC has started to revise and update the *Preamble* to the Monographs, which will provide new guidance to future IARC Working Groups.

In this presentation, the principles and procedures currently in use by the *IARC Monographs Programme* will be discussed.

## NOTAS:

# RESÚMENES DE COMUNICACIONES

## FRECUENCIA DE INTERCAMBIOS ENTRE CROMÁTIDAS HERMANAS EN INDIVIDUOS INFECTADOS POR *Helicobacter pylori*

Suárez S[1]., Sueiro R. A.[1], Garrido J.[1], Pardiñas M. C.[2], Menéndez M. D.[3] y Álvarez Á.[3,4]
[1]Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigación e Análises Alimentarias, Universidade de Santiago de Compostela (USC). [2]Servicio de Vixilancia da Saúde, USC. [3]Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela. [4]Departamento de Medicina, Facultade de Medicina, USC.

Diversos trabajos muestran que las infecciones bacterianas causan lesiones en el DNA de huésped. Es el caso de la infección debida a *Mycobacterium leprae*, agente causante de la lepra, que es capaz de inducir aberraciones cromosómicas e intercambios entre cromátidas hermanas en individuos afectados por dicha enfermedad. En el caso de la infección causada por *M. tuberculosis*, los individuos con tuberculosis muestran una frecuencia elevada de aberraciones cromosómicas y de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica.

Otra infección muy extendida a nivel mundial, ya que afecta aproximadamente a un 50 % de la población, es la causada por *Helicobacter pylori*. La relevancia de esta infección viene dada por su extensión, así como por el grado de peligrosidad, puesto que dicho microorganismo está clasificado como cancerígeno de tipo I por la IARC.

Así pues, y siguiendo la línea de investigación que llevamos varios años desarrollando en nuestro laboratorio, se ha analizado el efecto de la infección causada por *H. pylori* en linfocitos de sangre periférica de individuos infectados. Los resultados indican que no existen diferencias en el nivel de intercambios entre cromátidas hermanas de los individuos infectados y la población control.

## NOTAS:

## LOS SCE COMO MARCADORES DE GENOTOXICIDAD DE FÁRMACOS ANTIHIPERTENSIVOS: ESTUDIOS *in vivo* EN PACIENTES HIPERTENSOS ANTES Y DESPUÉS DE INICIADO EL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

Ramírez JM[1], Joven A[1], Télez M[1], Peñagarikano O[1], Valverde L[1], Flores P[2], Ugarte C[3], Arrieta I[1].
[1]Dpto. Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco; [2]Dpto. Enfermería, Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad del País Vasco; [3]Centro de Salud San Vicente, Servicio Vasco de Salud *Osakidetza*.

A pesar del considerable éxito que ha supuesto el avance en el tratamiento farmacológico, la hipertensión arterial continúa siendo uno de los mayores problemas de salud pública. En primer lugar, porque es el principal factor de riesgo cardiovascular y, en segundo, por su alta prevalencia.

Hay diferencias interpoblacionales en la prevalencia de la enfermedad. La causa fundamental reside en que la hipertensión es el resultado de la interacción de múltiples genes y factores ambientales. Entre éstos, edad, sexo, alimentación y estilo de vida juegan un papel importante.

El tratamiento farmacológico de la hipertensión puede tener efectos secundarios adversos. Éstos pueden deberse al mecanismo de acción del antihipertensivo utilizado. Los efectos pueden también variar entre medicamentos con el mismo mecanismo de acción. La sensibilidad interindividual y la duración del tratamiento tienen, además, una importancia relevante.

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio han evaluado la capacidad genotóxica del antihipertensivo β-bloqueante atenolol. Los resultados obtenidos han mostrado capacidad genotóxica *in vivo*, tras comparar una población control con las mismas características de edad y sexo que la muestra de pacientes. Con la idea de completar el estudio, y para obviar la sensibilidad individual, estamos realizando análisis en los que los pacientes actúan como control de sí mismos.

En el presente trabajo mostraremos los resultados, aún preliminares, obtenidos utilizando como marcadores de genotoxicidad los intercambios entre cromátidas hermanas (SCE). Hemos analizado la frecuencia de SCE en cultivos de linfocitos de sangre periférica de pacientes antes de iniciar el tratamiento y a los tres meses y al año del inicio del tratamiento con el β-bloqueante atenolol.

Los resultados obtenidos muestran un incremento de SCE a los tres meses de tratamiento y frecuencias similares antes del inicio y después de un año de tratamiento farmacológico. Estos resultados podrían explicarse como una "respuesta adaptativa" al antihipertensivo.

## NOTAS:

## DETERMINACIÓN DE LA POSIBLE CAPACIDAD GENOTÓXICA DE FÁRMACOS ANTIHIPERTENSIVOS *in vivo*: ANÁLISIS DE MN EN PACIENTES ANTES Y DESPUÉS DE INICIADO EL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

Joven A[1], Ramírez JM[1], Télez M[1], Peñagarikano O[1], Valverde L[1], Flores P[2], Ugarte C[3], Arrieta I[1].
[1]Dpto. Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco; [2]Dpto. Enfermería, Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad del País Vasco; [3]Centro de Salud San Vicente, Servicio Vasco de Salud *Osakidetza*.

Entre los medicamentos antihipertensivos, el grupo conocido químicamente como bloqueantes β-adrenérgicos, o simplemente β-bloqueantes, son de los más ampliamente utilizados. Estos fármacos actúan primariamente como antagonistas competitivos sobre los receptores cardiacos $\beta_1$ y, en algunos casos, sobre los $\beta_2$. Algunos como el atenolol bloquean específicamente los receptores $\beta_1$; otros como el propranolol tienen la capacidad de inhibir ambos receptores. A pesar del avance en la investigación, el mecanismo de los efectos antihipertensivos de los β-bloqueantes no está totalmente establecido.

Debido al volumen de utilización de estos fármacos y a la sugerencia de que algunos miembros de este grupo pueden generar efectos toxicológicos crónicos, las agencias reguladoras han alertado sobre ello.

La evaluación del efecto que puede producir *in vivo* un posible agente genotóxico se realiza utilizando diferentes marcadores. Trabajos previos de nuestro equipo han evaluado la capacidad genotóxica del β-bloqueante atenolol mediante marcadores citogenéticos y moleculares en linfocitos de sangre periférica de pacientes hipertensos y de muestra control. Entre los marcadores utilizados, el análisis de micronúcleos (MN) combinado con la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) ha sido el más efectivo a la hora de señalar la capacidad genotóxica del antihipertensivo atenolol *in vivo*.

Este estudio, cuyos resultados aún son preliminares, pretende completar la evaluación de la posible capacidad genotóxica de este fármaco analizando una muestra de pacientes hipertensos en la que los pacientes actúan como control de sí mismos.

El marcador utilizado ha sido los MN y el análisis se ha realizado antes, a los tres meses y al año del inicio del tratamiento farmacológico. Los resultados obtenidos señalan un aumento progresivo de MN y concuerdan con los obtenidos previamente.

## NOTAS:

## SUSCEPTIBILIDAD AL CÁNCER DE TIROIDES LIGADA A LA REGIÓN 1p13.1

[1]Baida, A., [1]González, E.R., [2]Galofré, P., [1]Marcos, R., [1]Velázquez, A.
[1]Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona); [2]Servei de Medicina Nuclear, Hospital Josep Trueta, Girona

El aumento de evidencias en los últimos años acerca de la importancia de genes de baja penetrancia en el cáncer esporádico, sugiere que ciertos polimorfismos en estos genes pueden conferir susceptibilidad a distintos tipos de cáncer. En el caso del cáncer de tiroides, los pocos estudios existentes indican la relevancia de factores medioambientales, pero se conoce muy poco acerca de los factores genéticos de susceptibilidad. Uno de los cromosomas implicados en esta patología es el cromosoma 1. Así, en un estudio caso-control realizado por nuestro grupo utilizando el microsatélite BAT-40, encontramos que la región 1p13.1 presenta un factor de susceptibilidad al cáncer de tiroides.

Con el fin de mapear dicho factor, se seleccionaron cuatro nuevos polimorfismos en esta región, situados a 1,9 kb, 45 kb, 1,1Mb y 2,4 Mb del BAT-40. En este estudio se genotipó, mediante PCR-RFLP, una población española de 136 individuos control y 201 pacientes de cáncer de tiroides para los cuatro polimorfismos indicados. Tres de estos polimorfismos mostraron unas frecuencias alélicas similares en la población control y en los pacientes. Sin embargo, para el polimorfismo rs2145418 (1,1Mb) se encontraron diferencias significativas en las frecuencias génicas ($p<10^{-5}$) y en la distribución de genotipos ($p<10^{-5}$) entre pacientes y controles, siendo la *odds ratio* de los genotipos 5,36, (IC 3,34-8,62; $p<10^{-5}$). Estos valores de significación indican que algunos de los genes próximos el marcador rs2145418 están directamente implicados en la susceptibilidad al cáncer de tiroides. En este momento se están llevando a cabo estudios para la identificación de dichos factores.

## NOTAS:

## CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS EN EL GEN *hGSTO1* EN POBLACIONES DE CHILE Y ESPAÑA

Paiva L, Hernández A, Creus A, Marcos R.
Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra (Barcelona)

El arsénico (As) es un conocido carcinógeno con una amplia distribución en la corteza terrestre, por lo que millones de personas están potencialmente expuestas a sus efectos tóxicos, genotóxicos y carcinogénicos.

La exposición humana al As inorgánico implica su metabolización y la excreción de especies de As inorgánico y de sus dos principales metabolitos: ácido monometilarsónico (MMA) y ácido dimetilarsínico (DMA). Independientemente del tipo y de la duración de la exposición, la distribución media relativa de metabolitos de As en orina en los individuos expuestos parece ser bastante constante: 10-30% de As inorgánico; 10-20% de MMA y 60-80% de DMA. No obstante, existen amplias variaciones interindividuales e interétnicas.

Estudios realizados con poblaciones indígenas de los Andes del norte de Chile y de Argentina (Atacameños) indican la presencia de un menor porcentaje de MMA en orina, difiriendo de los resultados obtenidos en otras poblaciones. Las diferencias interindividuales en el perfil de excreción del As entre estos individuos pueden reflejar la existencia de polimorfismos genéticos en enzimas involucradas en la biotransformación del As.

Considerando que el gen de la Glutation S-transferasa Omega 1 (*hGSTO1*) codifica para la enzima limitante en la biotransformación del As, los polimorfismos de este gen podrían explicar la variabilidad metabólica y, consecuentemente, la variabilidad de respuesta frente a la exposición al As observada en distintas poblaciones humanas.

En este contexto, hemos estudiado la existencia de polimorfismos en *hGSTO1* en poblaciones de atacameños, mestizos chilenos, y españoles.

Los resultados obtenidos, además de contribuir a una mejor caracterización de los polimorfismos de *hGSTO1* en los tres grupos étnicos estudiados, permitirán investigar la posible relación entre estos polimorfismos, la variable etnia y la susceptibilidad frente a la exposición crónica al arsénico.

## NOTAS:

## POLIMORFISMOS EN GENES DE REPARACIÓN Y CANCER DE TIROIDES

Pérez Machado G., Hernández A., Marcos, R .
Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

Existen claras evidencias de que la capacidad de reparar la lesiones del DNA está relacionada con la susceptibilidad o riesgo de padecer cáncer, y de que la eficacia en la reparación está determinada genéticamente. Por tanto, polimorfismos en los genes que codifican para las enzimas de reparación pueden ser considerados factores de riesgo en la carcinogénesis. Dada la relevancia del cáncer de tiroides, entre los tumores endocrinos, se ha estudiado su relación con los SNP de los genes de reparación *XRCC1* (codón 194, 280 y 399) *XRCC2* (codón 188) y *XRCC3* (codón 241 y IVS5). El gen *XRCC1* codifica una proteína involucrada en la ruta de reparación por escisión de bases (BER) y reparación por recombinación. Los genes *XRCC2* y *XRCC3* pertenecen al grupo de genes de la familia *Rad 51*, que participan en la recombinación homóloga. Así, en este estudio se han genotipado 458 individuos (207 controles, 251 pacientes) usando técnicas de PCR en tiempo real, *True SNP* AS-PCR en tiempo real, y multiplex PCR-RFPL. La distribución de los genotipos del XRCC1 194 y 280 y de los del XRCC3 IVS5 es significativamente diferente entre controles y pacientes, sin diferencias para el resto de los genotipos analizados. La presencia del alelo sustituido en el SNP 280 supone un riesgo para desarrollar cáncer tiroideo mientras que, por el contrario, los portadores de la sustitución en 194 y IVs-5 son menos susceptibles.

## NOTAS:

## VARIACIÓN GENOTÍPICA DE LOS GENES *TP53, GSTM1* Y *GSTT1* EN FAMILIAS DE PACIENTES CON TUMORES MÚLTIPLES

Pérez, A., Álvarez, O., Díaz S., Sierra, L. M., Comendador, M. A., López M.L., Ferreiro, J. A.
Área de Genética. Dpto. Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo

En un proyecto para estudiar variaciones en la conducta de riesgo, en función del conocimiento que las personas tengan sobre su riesgo de padecer cáncer, se ha elegido una población formada por un conjunto de familias de pacientes con cáncer múltiple, ya que se estima que las personas con esta enfermedad tienen una alta probabilidad de que el origen de la misma sea genético. Además, para reducir el análisis genético se han elegido familias de pacientes con cáncer múltiple que incluya cáncer de mama. Entre los genes que parecen importantes en la predisposición al cáncer de mama, y posiblemente al cáncer múltiple, está *TP53*, fundamental en el control del ciclo celular y en la inducción de apoptosis, procesos claves en el mantenimiento de la estabilidad genética. Además los genes *GSTM1* y *GSTT1*, que codifican enzimas del metabolismo xenobiótico, parecen jugar un papel, aunque menor, en la predisposición al cáncer de mama.

Se han estudiado las variaciones genotípicas de estos genes en 89 personas de 28 de estas familias, clasificadas en 4 grupos dependiendo de la historia familiar de cáncer de mama y/u ovario.

Los resultados para *TP53* revelan la ausencia de mutaciones patogénicas y la presencia de alelos polimórficos en los codones 36 (CCA36), 72 (Pro72) y 213 (CGG213), cuyas frecuencias, 0,006, 0,225 y 0,067 respectivamente, están en el rango descrito para poblaciones españolas y europeas, aunque curiosamente el alelo CGG213 sólo aparece en 2 grupos. Además, en el conjunto de las familias, no se detecta relación entre ninguno de estos alelos y la enfermedad.

Los resultados de los genes *GSTM1* y *GSTT1* muestran que las frecuencias de los genotipos nulos para estos genes (0,42 y 0,05, respectivamente) son similares a las de una población control asturiana.

El estudio combinado de estos genes no revela ninguna asociación entre ellos.

## NOTAS:

## ANÁLISIS MOLECULAR DE LOS EXONES 10 Y 11 DE BRCA2 EN FAMILIAS DE PACIENTES CON CÁNCER MÚLTIPLE

Álvarez, O; Pérez, A; Díaz S., Comendador M.A; Sierra, L.M; López M.L., Ferreiro, J.A.
Área de Genética. Dpto. Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo

La aparición de varios tumores en una persona puede ser consecuencia de defectos genéticos, por lo que tener un familiar con cáncer múltiple es uno de los criterios utilizados para considerar a una familia de riesgo. Dentro de este grupo, los casos que incluyen un tumor de mama son especialmente relevantes por ser éste el tumor más frecuente en las mujeres occidentales, ya que se ha estimado que aproximadamente una de cada ocho mujeres desarrollará cáncer de mama.

Entre los genes importantes en la predisposición al cáncer de mama destacan los genes supresores de tumores BRCA1 y BRCA2, considerados de alta penetrancia y responsables de la mayoría de los casos familiares de cáncer de mama y/u ovario, y de cáncer de mama, respectivamente. En el caso concreto de BRCA2, este gen parece estar en el origen del 35% de los casos de cáncer de mama familiar, incluidos la mayoría de los casos de cáncer de mama masculinos.

En un intento de determinar la variación genotípica de este gen en una población constituida por familias de pacientes con cáncer múltiple incluido mama, que presentan historia familiar de cáncer de mama, se ha comenzado el análisis molecular de los exones 10 y 11 de BRCA2, por secuenciación directa del DNA genómico, en 29 individuos de 12 familias diferentes.

Los resultados provisionales ponen de manifiesto la existencia de varios polimorfismos, algunos que no producen cambio de aminoácido, como Ser455Ser, His743His, Lys1132Lys, Val1269Val y Leu1356Leu, y otros que si lo cambian, como Asn289His, Asn372His y Asn991Asp, con frecuencias similares a las descritas para poblaciones control. Además, se han encontrado dos variantes de efecto desconocido, Ser1961Asn y Arg2108His, de las que todavía no se puede afirmar que sean mutaciones patogénicas.

Por último, cuatro de estos polimorfismos segregan siempre conjuntamente generando el haplotipo Asn289His-Ser455Ser-His743His-Asn991Asp.

## NOTAS:

## MECANISMOS MOLECULARES DE REPARACIÓN Y TOLERANCIA AL DAÑO EN EL ADN

Roldán-Arjona T., Ariza R. R., García-Ortiz M.V., Morales-Ruiz T., Ortega-Galisteo A.P., Matesanz R.D., Martínez-Macías M.I, Ponferrada M.I.
Universidad de Córdoba. Departamento de Genética. Edif. Gregor Mendel. Campus de Rabanales. 14071-Córdoba

Ante la presencia de daños en el ADN, las células reaccionan con una doble estrategia. Por un lado, enzimas reparadoras verifican continuamente la estructura del material genético, eliminando las lesiones inducidas por agentes endógenos y exógenos. Por otro lado, una batería de proteínas específicas se encarga de impedir que las lesiones no reparadas supongan un impedimento para el avance de la maquinaria de replicación. En este último grupo se incluyen ADN polimerasas especializadas capaces de replicar moldes dañados. Los mecanismos de reparación del daño en el ADN y su tolerancia han sido estudiados de forma intensiva en microorganismos y animales, pero el conocimiento de que disponemos sobre ambos procesos en plantas es todavía muy limitado. Las plantas difieren de la mayoría de organismos eucariotas en varios aspectos fundamentales, tales como la carencia de una línea germinal y la ausencia aparente de respuestas apoptóticas frente a la acumulación de lesiones. De hecho, se ha propuesto que las plantas pueden tolerar algunas deficiencias en el mantenimiento del genoma que en mamíferos provocarían respuestas apoptóticas letales. Así pues, es posible que, por una parte, algunas actividades destinadas a mantener el genoma sean más intensas en plantas que en otros organismos, y por otra, que el análisis genético detallado de las respuestas celulares al daño en el ADN sea más sencillo de realizar en plantas que en animales. En los últimos años *Arabidopsis thaliana* se ha convertido en un excelente organismo modelo para el estudio de los mecanismos de reparación del daño en el ADN y su tolerancia. Los resultados obtenidos hasta la fecha indican que las plantas emplean sistemas similares a los descritos en otros organismos para el mantenimiento de la estabilidad del genoma. Así por ejemplo, disponen de proteínas para revertir directamente el daño tales como fotoliasas, ADN glicosilasas que eliminan gran variedad de lesiones en las bases, además de enzimas implicadas en la reparación por escisión de nucleótidos y la eliminación de apareamientos incorrectos. Así mismo, poseen polimerasas especializadas capaces de sintetizar ADN sobre moldes imperfectos, que probablemente participan en procesos de tolerancia al daño. No obstante, también se han encontrado peculiaridades significativas. Una de las más relevantes es el empleo de ADN glicosilasas para eliminar 5-meC del ADN y reactivar genes silenciados, en lo que constituye un novedoso mecanismo de control epigenético no descrito hasta el momento en otros organismos.

**NOTAS:**

## SÍNTESIS DE ADN SOBRE MOLDES IMPERFECTOS: PAPEL DE LA ADN POLIMERASA ATPOLK DE *ARABIDOPSIS THALIANA*

García-Ortiz M.V., Ariza R.R. y Roldán-Arjona T.
Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Edificio Gregor Mendel.Campus de Rabanales. 14071-Córdoba.

Nuestro grupo ha identificado en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* una proteína perteneciente a la familia Y de ADN polimerasas, que se ha denominado AtPOLK. La proteína AtPOLK es una ADN polimerasa dependiente de molde, pero capaz de extender cebadores tanto correcta como incorrectamente apareados. AtPOLK muestra la arquitectura típica de una proteína de la familia Y, presentando un dominio polimerasa amino-terminal que contiene cinco regiones altamente conservadas (I-V) y un dominio carboxi-terminal con secuencia no conservada. En el motivo III se encuentran dos residuos (Asp y Glu) altamente conservados y cuya sustitución elimina la actividad catalítica de la enzima. La actividad enzimática de una forma truncada de la proteína demuestra que el dominio carboxi-terminal de AtPOLK limita su actividad ADN polimerasa así como su procesividad, pero aumenta su especificidad a la hora de incorporar el nucleótido correcto. La expresión de AtPOLK parece estar regulada a distintos niveles. Así, el ARNm del gen *AtPOLK* sufre un procesamiento alternativo que genera distintos transcritos con diferentes patrones de expresión en los distintos órganos de la planta. Por otra parte, el promotor de *AtPOLK* es activo en tejidos específicos de la planta y, particularmente, en células que sufren endorreduplicación, es decir, ciclos consecutivos de replicación de ADN en ausencia de mitosis. Para determinar el papel fisiológico de la proteína hemos aislado e identificado una línea de plantas mutantes que presentan una inserción de T-DNA en el gen *AtPOLK*.

## NOTAS:

## IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA ADN POLIMERASA ATPOLQ DE *ARABIDOPSIS THALIANA*

Matesanz R., García-Ortiz M.V., Roldán-Arjona T. y Ariza R.R.
Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Edificio Gregor Mendel.Campus de Rabanales. 14071-Córdoba.

AtPOLQ es la primera ADN polimerasa de la familia A descrita en la planta modelo *Arabidopsis thaliana.* Al igual que sus ortólogos en *Drosophila* (Mus308) y mamíferos (PolQ), y a diferencia del resto de polimerasas de la familia A, presenta un dominio helicasa amino-terminal separado del domino ADN polimerasa carboxi-terminal por una región central no conservada. Los mutantes *mus308* de *Drosophila* son hipersensibles a agentes inductores de enlaces cruzados y a ciertos agentes alquilantes monofuncionales, y se ha propuesto que Mus308 podría participar en la reparación y/o tolerancia de lesiones persistentes y difíciles de reparar, aunque se desconoce con certeza su función. El gen *AtPOLQ* presenta 26 exones y codifica un polipéptido 2154 aminoácidos y un peso molecular de 238.5 kDa. La proteína AtPOLK es mayor que las de *Drosophila* y mamíferos y aunque posee los dominios helicasa y polimerasa en sus regiones amino-terminal y carboxi-terminal, presenta además una extensión adicional en el extremo amino. El análisis mediante RT-PCR indica que el gen *AtPOLQ* se expresa en un amplio rango de tejidos de la planta y demuestra que su ARNm está sometido a un procesamiento alternativo. Hemos identificado dos líneas de plantas mutantes en el gen *AtPOLK* por inserción de T-DNA. En la primera la inserción interrumpe el exón 8 y por consiguiente el dominio helicasa, generando una proteína truncada. La segunda presenta una inserción en el último exón, y afecta al dominio ADN polimerasa.

## NOTAS:

## CARACTERIZACIÓN DE UNA ADN GLICOSILASA QUE PARTICIPA EN LA DESMETILACIÓN Y REACTIVACIÓN DE GENES SILENCIADOS EN LA PLANTA MODELO *ARABIDOPSIS THALIANA*

Morales-Ruiz T., Ponferrada-Marín MI., Martínez-Macías MI., Ariza RR., Roldán-Arjona, T.
Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Edificio Gregor Mendel.Campus de Rabanales. 14071-Córdoba.

Resultados recientes obtenidos por nuestro grupo en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* sugieren que la reactivación de genes silenciados puede tener lugar mediante la excisión de bases metiladas, en un proceso catalizado por ADN glicosilasas específicas. El prototipo de tales enzimas es ROS1, una proteína de 1393 aminoácidos que presenta un dominio ADN glicosilasa en su región carboxi-terminal. Plantas deficientes en ROS1 presentan hipermetilación y silenciamiento génico transcripcional de ciertos genes. La caracterización bioquímica de ROS1 ha demostrado que es una ADN glicosilasa bifuncional que genera incisiones en ADN con resíduos de 5-meciltosina, y que elimina dicha modificación del ADN como una base libre. Por otra parte, la actividad de ROS1 no está restringida al producto de metilación de la citosina, ya que la enzima también cataliza la incisión de ADN dañado con luz UV o con rayos gamma. Estos resultados sugieren que ROS1 podría reconocer en el ADN resíduos modificados de citosina y que quizás otro papel relevante de ROS1 en la planta sea la detección y eliminación de lesiones oxidativas. Es posible que la participación de ROS1 en uno u otro tipo de función (desmetilante o reparadora) sea controlada por su interacción con otras proteínas y/o con ARN. ROS1 es una proteína de gran envergadura, y el dominio ADN glicosilasa, localizado en la mitad carboxi-terminal, constituye sólo una pequeña porción de su secuencia. El extremo amino-terminal presenta una elevada proporción de aminoácidos básicos, principalmente lisina, y su secuencia está relacionada con el extremo carboxi-terminal de las histonas H1. Mediante ensayos de retardo en gel hemos comprobado que el dominio amino-terminal de ROS1 interacciona de forma no específica con ADN, tanto en su estado metilado como no metilado. Por otra parte, el dominio amino-terminal de ROS1 también es capaz de interaccionar fuertemente con ARN de bajo peso molecular. Ello sugiere la posibilidad de que, al igual que ocurre durante el establecimiento de los patrones de metilación, el ARN pueda también actuar como guía en los procesos de desmetilación y/o reparación.

## NOTAS:

## UNA FAMILIA DE ADN GLICOSILASAS IMPLICADAS EN EL CONTROL EPIGENÉTICO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN *ARABIDOPSIS THALIANA*

Ortega-Galisteo A., Morales-Ruiz T., Martinez-Macias MI., Ponferrada-Marin MI., García-Ortíz MV., Ariza RR., Roldán-Arjona, T.
Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Edificio Gregor Mendel.Campus de Rabanales. 14071-Córdoba.

ROS1 es una ADN glicosilasa que cataliza la excisión de 5-metilcitosina del ADN. El genoma de *Arabidopsis thaliana* contiene otros tres genes que codifican proteínas estructuralmente relacionadas con ROS1 y que hemos denominado DME, EN3 y EN4. Las localizaciones cromosómicas de estos 4 genes se corresponden con 4 segmentos que derivan de un segmento ancestral común y que surgieron probablemente mediante dos duplicaciones sucesivas. Tras purificar la proteína codificada por el gen *DME* hemos comprobado que presenta una actividad muy similar a la de ROS1, eliminando 5-metilcitosina del ADN y catalizando incisiones en ADN dañado con luz UV o radiaciones ionizantes. En la actualidad, nos encontramos purificando las proteínas EN3 y EN4 para determinar su actividad enzimática. El aislamiento y caracterización fenotípica de mutantes por inserción de T-DNA en cada uno de los 4 genes (*ROS1, DME, EN3 Y EN4*) nos ha permitido concluir que, aunque codifiquen proteínas estructuralmente relacionadas entre sí y quizá con la misma actividad enzimática, muy probablemente no realicen funciones redundantes *in vivo*. Nuestros resultados demuestran que la inactivación de cada gen por separado da lugar a alteraciones en el desarrollo de la planta, y como característica generalizada a la formación de frutos con semillas inviables. Esto sugiere que uno de los principales papeles de esta familia de ADN glicosilasas es el control epigenético del desarrollo de la semilla.

## NOTAS:

## EL SISTEMA DE TOLERANCIA BTM PARTICIPA EN EL PROCESAMIENTO Y/O REPARACIÓN DE LOS DAÑOS INDUCIDOS POR STREPTOZOTOCINA

Sancho, I., Comendador, M. A., Sierra, L. M.
*Área de Genética. Dpto. Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo.*

La metilnitrosourea Streptozotocina (STZ) es un agente antitumoral cuya acción quimioterapéutica parece deberse a la metilación del oxígeno 6 de la guanina ($O^6$-G). Sin embargo, no se conoce como contribuyen a su actividad las metilaciones que necesariamente tiene que inducir en otras posiciones de las bases del DNA.

Su estudio en células germinales femeninas de Drosophila muestra que la concentración de 15 mM induce (i) una frecuencia de mutación mayor en oogonias que en oocitos, y (ii) un espectro de mutación constituido mayoritariamente por transiciones GC-AT, lo que encaja con la metilación de $O^6$-G, pero con una frecuencia de transversiones, que pueden tener su origen en metilaciones de nitrógenos, considerablemente alta.

Para profundizar en los mecanismos de acción de STZ, se ha estudiado la influencia del sistema de tolerancia por bypass (BTM), representado por el locus *mus308*, en su mutagenicidad en células germinales femeninas, usando el sistema vermilion, y comparando los resultados con los obtenidos previamente en condiciones de reparación eficientes.

Esta comparación indica en primer lugar que BTM participa en el procesamiento y/o reparación de los daños inducidos por STZ, porque existen diferencias entre las frecuencias de mutación obtenidas en las dos condiciones de reparación. Por otro lado, en condiciones BTM deficientes, el espectro de mutación inducido está constituido por una mayoría de transversiones AT-TA, seguidas por transiciones AT-GC y reordenaciones (deleciones e inserciones) y, por último, por transiciones GC-AT.

Estos resultados confirman la influencia de BTM en el procesamiento de $O^6$-alquilG y sugieren que, o bien STZ metila otros átomos de oxígeno, o pueden ser la primera indicación del papel de este sistema en el procesamiento de daños en átomos de nitrógeno.

## NOTAS:

## LA LONGITUD TELOMÉRICA COMO FACTOR MODULADOR DEL DAÑO GENÉTICO

Moreno J., Castellà M., Puerto S., Surrallés J, Marcos R.
Grup de Mutagènesi, Department de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

Los telómeros son estructuras situadas en los extremos de cada brazo cromosómico constituidos por una corta secuencia de nucleótidos altamente repetida en tándem de seis nucleótidos a la que se asocian diversas proteínas, cuya función es evitar la fusión entre diferentes cromosomas, proteger al cromosoma de posibles daños y mantener la estabilidad genómica. En recientes estudios se ha comprobado que algunas proteínas asociadas a los telómeros, particularmente las proteínas que estabilizan los extremos formando estructuras *D-loop*, están involucradas en la reparación del DNA, lo que refuerza la hipótesis de su relación con los procesos de inestabilidad genómica.

En este trabajo se pretende correlacionar la longitud telomérica individual con los niveles de daño genético, tanto basal como inducido, frente a agentes genotóxicos, lo que supondría considerar a la longitud telomérica como un factor individual de riesgo genotóxico. Para validar esta hipótesis hemos utilizado linfocitos aislados de 70 muestras de sangre de cordón umbilical y hemos analizado en paralelo el daño genético basal, medido como frecuencia de MN, y de daño genético inducido, tras el tratamiento con mitomicina C, con la longitud de los telómeros, que se ha medido utilizando la técnica de TRF-Southern.

Este experimento se ha hecho por duplicado (35 + 35 casos). Los resultados de la primera réplica indican que los subgrupos formados por aquellos individuos con telómeros mas cortos (9 casos) y más largos (11 casos) tienen valores basales (5,88 y 2,45, respectivamente) e inducidos (142,11 y 100,64, respectivamente) de MN significativamente distintos, siendo los donantes con telómeros más cortos los que presentan mayor frecuencia de MN. Estos resultados apoyarían la hipótesis de que la longitud telomérica puede ser contemplada como un factor individual de susceptibilidad.

## NOTAS:

## *DROSOPHILA*: UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE LA INESTABILIDAD GENÓMICA

López A., Baida A., Akdi M., Marcos R., Velázquez A.
Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

La estabilidad genómica hace referencia a una tasa de mutación espontánea elevada, siendo una característica importante en el proceso de carcinogénesis. Entre los factores importantes en la inestabilidad genómica hay que destacar la alteración del metabolismo del DNA (reparación y replicación, principalmente). En nuestros estudios de inestabilidad genómica utilizamos mutantes de *Drosophila* que presentan alteración en el sistema de reparación de apareamientos erróneos (MMR) y en la replicación del DNA. Para ello, analizamos la inestabilidad genómica general mediante *fingerprints* obtenidos por PCR (AP-PCR) y la inestabilidad de microsatélites (MSI) en la línea germinal de diferentes cepas de *Drosophila*. La relevancia de nuestros estudios de inestabilidad genómica in vivo reside en que la MSI es una característica de ciertos tipos de cáncer que presentan deficiencia en MMR y en que algunos tumores con MSI no presentan alteraciones en los genes fundamentales del proceso MMR, por lo que factores de la replicación del DNA podrían estar implicados, como son las alteraciones en *PCNA*. Nuestros resultados indican que tanto los individuos homocigotos como heterocigotos para la deficiencia en *Msh2* (MMR) presentan inestabilidad genómica. De forma similar, los mutantes para *PCNA* también muestran inestabilidad genómica, tanto los homocigotos como los heterocigotos, indicando la importancia de los factores de replicación del DNA en mantener la estabilidad genómica in vivo. Por lo tanto, la inestabilidad genómica que presentan los individuos heterocigotos para las alteraciones en *Msh2* y *PCNA* en *Drosophila*, puede tener implicaciones importantes en la susceptibilidad al cáncer de los individuos portadores de estas mutaciones en humanos.

## NOTAS:

## INFLUENCIA DEL SISTEMA DE REPARACIÓN DE APAREAMIENTOS ERRÓNEOS EN LA ACTIVIDAD DE GEMCITABINA SOBRE LA INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES

Álvarez, L., Comendador, M.A., Sierra, L.M.
Área de Genética. Dpto. Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo.

Gemcitabina (GEM), un análogo de histidina, es un agente antitumoral utilizado en el tratamiento de distintos tipos de tumores sólidos y de leucemias. Su actividad se basa fundamentalmente en que su incorporación al DNA provoca el bloqueo de la replicación y conduce a apoptosis. No obstante, a veces su presencia en el DNA provoca la incorporación de nucleótidos, siendo el origen de apareamientos erróneos y, por tanto de mutación. Aunque esta vía de actividad de GEM es menos conocida debe de tener cierta importancia, ya que los efectos quimioterapéuticos de este agente parecen estar influidos por el sistema de reparación de apareamientos erróneos (MMR).

Para intentar conocer un poco mas de este aspecto de la genotoxicidad de GEM, en este trabajo se ha estudiado la influencia del sistema de reparación MMR en la actividad de este compuesto, analizando la posible inducción de inestabilidad de loci microsatélites en células postmeióticas masculinas de *Drosophila melanogaster*, tanto en condiciones eficientes de reparación, como deficientes para el sistema MMR, usando el mutante *spel1*.

Se analizaron seis loci microsatélite, *elf1* (CAG), *w* $(AT)_{13}$, *AbdB* $(AC)_{19}$, *Sev* $(GT)_{13}$, *U1a* $(AT)_{11}$, *mam* $(CAG)_8$, no solo en las moscas parentales y su descendencia $F_1$, sino también en la descendencia $F_2$ de machos tratados con concentraciones 0.1, 0.5 y 1 mM de GEM.

Los resultados obtenidos apuntan a un efecto de este compuesto sobre la inestabilidad de uno de los loci, aunque solo con la concentración de 0.1 mM y en condiciones MMR deficientes. Aunque estos resultados son todavía preliminares, confirmarían el efecto del sistema MMR en la genotoxicidad de GEM.

## NOTAS:

## UNA DUPLICACIÓN EN TÁNDEM DEL GEN *white* ES RESPONSABLE DE LOS CAMBIOS FENOTÍPICOS EN DOS CEPAS *zeste*[1] DE *Drosophila melanogaster*

Badal M., Portela A., Cabré O., Xamena N.
Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia. Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

Los machos de la cepa mutante M115 de *Drosophila melanogaster* y los de la cepa revertiente RM115, son fenotípica y genotípicamente parecidos a los portadores de los alelos $w^{+UZ}$ y $w^{+UR}$, respectivamente. Así pues, los machos M115 y $w^{+UZ}$ presentan ojos *zeste*[1], mientras que los machos RM115 y $w^{+UR}$ presentan ojos de color silvestre. Por eso, la caracterización molecular de las cepas M115 y RM115 puede ser extendida al sistema *zeste* inestable, usado como ensayo de genotoxicidad, para un mejor conocimiento de las bases moleculares de dicho ensayo.

La idéntica localización de la inserción de un elemento *FB-NOF* en las cepas con machos de ojos *zeste*, demostró la similitud entre los dos sistemas mutante/revertiente. Igualmente, las cepas de ojos silvestres mantenían sólo secuencias *FB* en la inserción, supuestamente por escisión de *NOF*. Esta inserción se encuentra en las proximidades del gen *white*, justo en el tercer intrón del gen *CG32795*.

Sin embargo, nuestra investigación demuestra que el fenotipo *zeste*, en las cepas estudiadas, no es debido a la interferencia que un elemento *FB-NOF* pudiera tener sobre la interacción *zeste-white*, sino a una duplicación en tándem del gen *white*, no detectada anteriormente. La reversión del fenotipo en la cepa RM115 se correlaciona con la pérdida de la duplicación, y de secuencias *NOF*, probablemente debido a un evento de recombinación.

## NOTAS:

## EFECTO DE LA INSERCIÓN DEL ELEMENTO TRANSPONIBLE *FB-NOF* SOBRE LA EXPRESIÓN DE *white* Y DE SU VECINO INMEDIATO *CG32795*

Portela A., Badal M., Xamena N., Cabré O.
Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

Los elementos transponibles (TE) provocan una gran plasticidad genómica. Producen reordenaciones cromosómicas que, junto a la inserción, pueden alterar la expresión de genes afectados.

Los mutantes M115 de *Drosophila melanogaster* presentan, además del alelo *zeste*[1] y una duplicación del gen *white*, un TE compuesto *FB-NOF* inserto en el tercer intrón del gen *CG32795* cuyo extremo 5' dista tan solo 700bp del extremo 3' de *white*. El análisis del revertiente RM115 muestra una única copia de *white* y el elemento *FB* sin *NOF*.

Con el fin de determinar el efecto de la inserción sobre los dos genes, comparamos mediante PCR a tiempo real, la expresión en las cepas salvaje (CS), mutante M115 y revertiente RM115.

El gen *white* se expresa aproximadamente un 200% más en M115 que en la cepa salvaje, mientras que en RM115, que presenta sólo una copia, la expresión es similar a CS. Así pues, la inserción no parece afectar a la expresión del gen *white*.

El gen *CG32795* tiene modificada su expresión debido a la inserción. Este gen presenta, en mutantes y revertientes, una expresión del extremo 5' equiparable a la de la cepa salvaje. Dicha región se halla duplicada en M115 y no en RM115. Se observa que la expresión del extremo 3' está drásticamente reducida. Creemos que la inserción en el tercer intrón dificulta la transcripción o el procesamiento, dando transcritos carentes del extremo 3'.

Paralelamente, estudiamos la extensión de la interacción *zeste-white* sobre las hembras *zeste*[1]. Como *zeste* pertenece al grupo Trithorax, cabría esperar que el efecto de compactación en el promotor de *white* se extendiera a lo largo de kilobases, afectando también a la expresión de *CG32795*. Este efecto parece que no se produce y el gen *CG32795* se expresa normalmente en las hembras *zeste*[1].

## NOTAS:

## BIOMARCADORES DE EXPRESIÓN GÉNICA EN ESTUDIOS MEDIOAMBIENTALES CON LA ESPECIE ABORIGEN *Mus spretus*

Pueyo C, Ruiz-Laguna J, Prieto-Álamo MJ, López-Barea J, Abril N
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. Carretera Madrid-Cádiz Km 396-a, 14071 Córdoba. España

Este trabajo investiga la aplicación a estudios medioambientales de la cuantificación del número de copias de distintos transcritos de la especie aborigen *M. spretus*. Esta especie no protegida se utiliza como organismo bioindicador de contaminación terrestre, por su proliferación, fácil manejo y reducidas áreas de campeo. Las glutatión transferasas (GSTs) constituyen una superfamilia de enzimas destoxificadoras de FaseII, al catalizar la conjugación del GSH con una amplia gama de compuestos electrofílicos, que a menudo son producidos en una reacción preliminar de FaseI catalizada por un citocromo-P450 (CYP). Los transcritos cuantificados codifican GSTs de las clases Alpha (*Gsta1*, *Gsta2*, *Gsta3*, *Gsta4*), Mu (*Gstm1*, *Gstm2*, *Gstm3*), Omega (*Gsto1*), Pi (*Gstp1*, *GstP2)* y Theta (*Gstt1*, *Gstt2*), o citocromos de las familias CYP1 (*Cyp1A1*, *Cyp1A2*), CYP2 (*Cyp2A5*, *Cyp2B9*, *Cyp2E1*), CYP3 (*Cyp3A11*), y CYP4 (*Cyp4A10*). Las muestras cuantificadas fueron hígado, riñón y pulmón de ratones capturados en las balsas de fosfoyeso del Polo Químico de Huelva (zona problema) y en la Reserva Biológica de Doñana (zona control). En ambas zonas se capturaron machos y hembras de 9 y 12 gr. de peso. Como referencia se analizaron ratones consanguíneos *M. spretus* (SPRET/EiJ) y *M. musculus* (BALB/cByJ) criados en el laboratorio. Se demuestra el interés de la cuantificación absoluta de transcritos específicos como biomarcador de expresión génica en estudios de campo. La extraordinaria homología entre el genoma de *M. spretus* y el de la especie de laboratorio *M. musculus*, posibilita la cuantificación de cualquier transcrito de interés en dicho organismo bioindicador. La comparación con ratones consanguíneos *M. spretus* y *M. musculus*, resulta de gran valor para explicar las respuestas de los animales de vida libre. La variabilidad interindividual y los efectos del sexo y peso que muestran los niveles de ciertos transcritos pueden conducir a conclusiones erróneas en estudios con animales agrupados. La singularidad del patrón de expresión de cada transcrito en cada órgano, aconsejan el análisis de distintos tejidos de cada animal.

(Financiación: BMC2002-00179, DOÑANA 2005)

**NOTAS:**

## BIOMARCADORES DE EXPRESION PROTEICA EN ESTUDIOS AMBIENTALES

López-Barea J, Alhama J, Ballesteros J, Bonilla D, Montes R, Romero A, Vioque A.
Dpto. Bioquímica y Biol. Molec. U. Córdoba, Ed. S. Ochoa, autopista A4, Km. 396a, 14071 Córdoba, ESPAÑA.

La contaminación ambiental suele seguirse midiendo la respuesta de diversos biomarcadores bioquímicos. Entre los biomarcadores convencionales se usan los sistemas biotransformadores (CYPs, GSTs) o antioxidativos (KAT, G6PDH, TXs, GSH) y los daños oxidativos en biomoléculas (8oxodG, MDA, GSSG). Estos biomarcadores son sesgados, al requerir buen conocimiento previo de sus mecanismos de acción y sus relaciones dosis-efecto.

Las recientes técnicas Proteómicas permiten estudiar los cambios de expresión de miles de proteínas e identificar aquellas cuyas alteraciones responden mejor a los contaminantes. Tras analizar por espectrometría de masas (MS) sus huellas peptídicas (MALDI-TOF) o sus etiquetas de secuencia (ESI-MS/MS), su contrastación bioinformática con las bases de datos permite identificar proteínas útiles como biomarcadores no sesgados de contaminación, una aproximación conocida como Proteómica Ambiental.

Estamos analizando la contaminación del Entorno de Doñana, amenazado por los metales del vertido de Aznalcóllar y los plaguicidas ampliamente usados en la zona. Nuestro estudio combina el análisis de contaminantes (U. Huelva), las respuestas de los biomarcadores convencionales, y los cambios de expresión proteica (U. Córdoba), que estamos analizando en tres especies, el cangrejo rojo (*Procambarus clarkii*) en arroyos y marismas, el ratón moruno (*Mus spretus*) en ecosistemas terrestres, y coquina de fango (*Scrobicularia plana*) en el Estuario del Guadalquivir.

Mediante 2-DE separamos las proteínas citosólicas de hígado de ratón y agallas de cangrejo y coquinas, usando IEF en gradientes de pH (4-7) en la 1ª dimensión y SDS/PAGE en la 2ª. Cada gel resuelve >2500 proteínas. Al comparar por análisis de imagen las distintas zonas estudiadas se detectan 20-30 proteínas con expresión diferencial. En ratones y cangrejos, estamos identificándolas por MS. En coquinas, hemos determinado secuencias parciales de 19 proteínas alteradas e identificado dos, gliceraldehído-3-P deshidrogenasa e hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa, que podrían servir como nuevos biomarcadores de contaminación ambiental.

(Financiación, REN2002-04366 y DOÑANA 2005)

**NOTAS:**

## PATRONES DE EXPRESIÓN GÉNICA DE ENZIMAS DESTOXIFICADORAS DE EROs Y METALOTIONEÍNAS EN RATÓN

Prieto-Álamo MJ, Osuna-Jiménez I, Cabrera-Luque JM, Pueyo C.
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. Carretera Madrid-Cádiz km 396a, 14071 Córdoba. España.

Los organismos aerobios producen y degradan EROs que ejercen funciones fisiológicas vitales y que también causan efectos perjudiciales. Se habla de estrés oxidativo cuando las células se enfrentan a concentraciones anormalmente altas de EROs. Las células se defienden frente a situaciones de estrés mediante respuestas coordinadas que modulan los niveles de expresión de distintos grupos de genes. Utilizando una metodología desarrollada por nuestro grupo, en este trabajo hemos cuantificado de forma absoluta la expresión de los genes de ratón que codifican enzimas antioxidantes básicas como catalasa, Cu/Zn y Mn superóxido dismutasas, y de los que codifican las diferentes isoformas de metalotioneínas (MT1, MT2, MT3 y MT4).

Se han analizado *in vivo* los niveles de expresión de dichos genes en diferentes órganos de ratones BALB/c (hígado, riñón, pulmón, testículo, cerebro, corazón y bazo), cuantificando los niveles basales de expresión y en respuesta a estrés oxidativo inducido por PQ. El número de copias de los distintos transcritos varió considerablemente entre tejidos: p.e. en testículo se cuantificaron 784 moléculas/pg del mRNA del gen MT1, mientras que en pulmón los niveles fueron 33 veces menores. En el caso de las MTs se pusieron de manifiesto especificidades tisulares en la variabilidad interindividual de los niveles basales de expresión, obteniéndose resultados similares en ratones consanguíneos de la especie *M. spretus* (SPRET/EiJ). En los animales tratados con PQ, MT1 y MT2 fueron los genes que experimentaron las mayores inducciones, observándose también especificidades tisulares en las respuestas. Así, el tratamiento con 30 mg/kg de PQ produjo en hígado el máximo incremento de expresión del gen MT1 a los 120 min (399 moléculas/pg), mientras que en riñón y pulmón el máximo se alcanzó a los 240 min (348 y 104 moléculas/pg, respectivamente). Hemos comparado los perfiles de expresión *in vivo* de estos genes con los de 2 líneas celulares de ratón utilizadas habitualmente en estudios *in vitro* (NIH/3T3 y Hepa1-6). Para ello se han cuantificado sus niveles basales y en respuesta a *tert*-BOOH. Además se ha analizado la estabilidad de los transcritos, tanto *in vivo* como *in vitro,* mediante inhibición de la transcripción por exposición a actinomicina D, observándose diferencias según el órgano y la línea celular estudiada.

(Financiación: BMC2002-00179)

**NOTAS:**

## ESTUDIOS DE EXPRESIÓN GÉNICA EN RATONES TRATADOS *IN VIVO* CON ARSÉNICO

Hernández A, Creus A, Xamena N., Marcos R.
Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

Con el fin de determinar los genes cuya expresión se ve afectada tras una exposición al arsénico, hembras de ratón salvaje DBA/LacJ y ratón *knock out* para *hGSTO 1-1* recibieron un tratamiento agudo con óxido de fenilarsina (PAO) o arsenito (AsIII). Se utilizó el sistema DIGE para determinar el perfil de expresión de las proteínas del hígado, tanto de los controles como de los expuestos, y aquellas proteínas que aparecieron sobre- o sub-expresadas tras el tratamiento fueron identificadas por espectrometría de masas. El tratamiento agudo, a las dosis utilizadas de estos compuestos, genera un efecto poco específico, alterando el nivel de muchas proteínas alrededor de 2 veces y no alterando el de unas pocas proteínas 10-20 veces. Los resultados revelaron un total de casi 40 proteínas alteradas tras el tratamiento con ambos compuestos, aunque el perfil de alteraciones no era exactamente el mismo. Al realizar los experimentos con los ratones *knock out* para *hGSTO 1-1*, el AsIII demostró el mismo impacto que en el ratón salvaje, mientras que la PAO ejerció mayor efecto sobre el *knock out*, sugiriendo la existencia de una posible ruta alternativa de metabolización del AsIII, donde la GST Omega no estaría involucrada. También se observó que el perfil de proteínas alteradas entre el ratón salvaje y el *knock out* no es el mismo, sino que algunas proteínas se alteran exclusivamente en uno u otro sistema, lo que sugiere que los individuos con cambios en el gen *hGSTO1-1* pudiesen tener un impacto distinto tras una exposición. El análisis de MS/MS reveló que la mayoría de proteínas sobreexpresadas eran de estrés, como las Hsp70 y 60, y también otras GST como la M1 y la P1 que se inducen tras el estrés oxidativo provocado por el tratamiento, proteínas involucradas en la transcripción y *folding* de proteínas o proteínas involucradas en la cadena de transporte de electrones, debido al impacto del As en el sistema respiratorio.

## NOTAS:

## EVALUACIÓN MUTAGÉNICA Y ECOTOXICOLÓGICA DE MUESTRAS DE RESIDUOS DE DEPURADORA DE UTILIDAD EN AGRONOMÍA

Herrero O., Fernández J.M., Hernández D., Montes P., Polo A., de la Peña E.
Centro de Ciencias Medioambientales - CSIC, Serrano 115 Dpdo., 28006 Madrid

El uso de enmiendas orgánicas se ha convertido en una solución muy eficiente para la mejora y restauración de los contenidos en materia orgánica de los suelos pobres o degradados. Muchos residuos orgánicos fruto de actividades antrópicas son candidatos potenciales para ser reciclados como enmendantes del suelo después de un tratamiento apropiado. Los lodos procedentes de estaciones regeneradoras de aguas residuales (ERAR) y los *compost* obtenidos a partir de residuos sólidos urbanos (RSU) pueden constituir una alternativa para incrementar los contenidos de nutrientes y materia orgánica del suelo y representar una solución para los problemas económicos y medioambientales que plantea el almacenamiento de estos residuos.

Se hace necesaria la evaluación simultánea de los efectos adversos de estas enmiendas sobre la materia orgánica del suelo y de su potencial mutagenicidad y ecotoxicidad mediante diferentes bioensayos capaces de detectar la presencia de sustancias que supongan un riesgo tóxico y medioambiental.

Se muestran los resultados obtenidos con diferentes enmiendas orgánicas (lodo compostado, lodo deshidratado y compost de residuos sólidos urbanos) tras el análisis de su mutagenicidad mediante el Test de Ames (empleando las cepas TA98, TA100, TA102 y TA104 de *Salmonella typhimurium*) y su ecotoxicidad mediante distintos ensayos: el Test de Zucconi (germinación de *Lepidum sativum*) y el Test de bioluminiscencia de *Vibrio fischeri*. Además se han llevado a cabo las pruebas necesarias para valorar la calidad de estas enmiendas (elementos asimilables, elementos totales, metales pesados, carbono orgánico total, producción de $CO_2$, producción de amonio, etc.) y se están estudiando los efectos sobre cultivos de cebada (*Hordeum vulgare*) en campo.

## NOTAS:

## ESTIMACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD DE CICLOFOSFAMIDA Y METOTREXATO IN VIVO EN CÉLULAS SOMÁTICAS DE *Drosophila melanogaster*, MEDIANTE LA COMBINACIÓN DE LOS ENSAYOS DEL COMETA Y SMAR *w/w+*

Uriol E., Comendador M.A. y Sierra L.M.
Área de Genética. Dpto. Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo.

La biomonitorización de pacientes con cáncer de mama sometidas a quimioterapia adyuvante CMF con el ensayo del cometa revela que, aunque existe variabilidad interindividual, se pueden establecer dos grupos, dependiendo de que el tratamiento induzca o no roturas de DNA. En un intento por determinar cuál de los agentes integrantes del cóctel de quimioterapia, ciclofosfamida (CP), metotrexato (MTX) y 5-fluorouracilo (5-FU), puede tener más influencia en la respuesta diferencial de los individuos, se han comenzado unos estudios en Drosophila para determinar la capacidad de estos agentes en la inducción de roturas de DNA, y también para estudiar la posible relevancia genotóxica de estas roturas. Para ello se ha utilizado la combinación del ensayo del cometa con el ensayo *w/w+* SMAR de ojos que, en su versión modificada, discrimina entre inducción de recombinación mitótica y clastogenicidad.

Para CP, los resultados del cometa indican que las concentraciones 0.1, 0.5 y 1 mM inducen roturas de DNA, aunque no hay relación lineal dosis-respuesta. Por su parte, los resultados del ensayo SMART demuestran que estas roturas pueden ser fuente de recombinación mitótica y de clastogenicidad, aunque en rangos de concentraciones diferentes, porque mientras que la inducción de recombinación aumenta de modo lineal de 0.1 a 0.5 mM, la clastogenicidad comienza con 0.5 mM y aumenta con 1 mM. Parece además que este compuesto es capaz de inducir mutaciones génicas y/o deleciones.

En el caso de MTX, los resultados del cometa, todavía provisionales, no parecen indicar la inducción de roturas por parte de este agente. En el ensayo SMART sólo la concentración 5 $\mu$M, parcialmente tóxica, parece capaz de inducir recombinación mitótica y mutaciones génicas y/o deleciones, pero no clastogenicidad.

Estos resultados, aunque en parte provisionales, demuestran el distinto comportamiento de estos agentes y aportan información útil para el posterior análisis combinado de los mismos.

**NOTAS:**

## EVALUACIÓN GENOTÓXICA DE DERIVADOS FURILETILÉNICOS Y NITROFURANOS UTILIZANDO EL ENSAYO DEL COMETA EN CÉLULAS LINFOBLASTOIDES HUMANAS

González Borroto J [1,2], Pérez Machado G [1], Creus A [1], Marcos R [1]

[1] Grupo de Mutagénesis, Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

[2] Centro de Investigación y Desarrollo Aplicado, 08130 Santa Perpètua de Mogoda, Barcelona.

Dadas las posibles aplicaciones de algunos derivados 2-furiletilénicos y 5-nitrofuranos en medicina humana y veterinaria, es necesaria la evaluación de su genotoxicidad. Para confirmar las diferencias en el potencial genotóxico de los compuestos 2-furiletilénicos y 5-nitrofuranos, debidas principalmente a la diferente posición del grupo nitro en su estructura química, se evaluó la inducción de roturas en el DNA por varios compuestos de estas dos familias químicas.

En el presente trabajo se ha estudiado la genotoxicidad de tres derivados 2-furiletilénicos y cuatro 5-nitrofuranos, utilizando el ensayo del cometa en cultivos de células linfoblastoides humanas TK6. Este ensayo es un método rápido, sencillo y sensible para medir daño en el DNA. Los derivados furiletilénicos estudiados fueron los siguientes: 2-furil-1-nitroeteno,1-(5-bromofur-2-il)-2-nitroeteno y 1-(5-bromofur-2-il)-2-bromo-nitroeteno, mientras que los 5-nitrofuranos han sido: nitrofurantoína, nitrofurazona, furazolidona y 5-nitro-2-furanoacroleína.

Se realizaron dos experimentos independientes y se efectuaron tratamientos de 3 h en ausencia de activación metabólica. No se detectaron efectos genotóxicos para dos de los furiletilenos, si bien el derivado 1-(5-bromofur-2-il)-2-nitroeteno presentó una respuesta estadísticamente significativa, principalmente a la concentración más alta ensayada. Este efecto fue considerado biológicamente relevante y, en consecuencia, podemos concluir que este compuesto es débilmente genotóxico. Por otra parte, para los 5-nitrofuranos, se observó una respuesta positiva dependiente de la dosis y los incrementos detectados para los tres parámetros analizados (momento de la cola, porcentaje de DNA en la cola y longitud de la cola) fueron significativos para los cuatro compuestos evaluados. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la posición del grupo nitro influye en la genotoxicidad de los compuestos evaluados. Así, bajo las condiciones de este ensayo, los derivados 2-furiletilénicos que presentan el grupo nitro fuera del anillo furánico son menos genotóxicos que los 5-nitrofuranos.

## NOTAS:

## GENOTOXICIDAD DE GEMCITABINA IN VIVO EN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Fernández, R., Sancho, I., Fernández, L.P., Uriol, E., Aguado, L., Comendador, M.A., Sierra, L.M.
Área de Genética. Dpto. Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo.

Gemcitabina (GEM) es un antimetabolito análogo de citidina, e inhibidor del pool de nucleótidos, con un amplio y creciente uso en la quimioterapia del cáncer. Cuando se incorpora al DNA bloquea la replicación e induce apoptosis y, aunque también parece generar mutaciones génicas y roturas de DNA de cadena sencilla, estas dos vías de actuación son poco conocidas. Para estudiar in vivo su relevancia en la genotoxicidad de GEM, se han utilizado distintos ensayos en *D. melanogaster*.

Los resultados del ensayo de letales recesivos ligados al sexo demuestran que concentraciones entre 1 y 100 mM no inducen mutaciones génicas en células germinales postmeióticas masculinas. No obstante, con el ensayo del cometa, se detecta la inducción de roturas de DNA en neuroblastos de larvas del tercer estadío, pero solo con una concentración tóxica, 50 mM.

También se analizó su efecto en el ensayo SMART de ojos, en condiciones de reparación por escisión de nucleótido deficientes ($NER^-$) y eficientes ($NER^+$). Los resultados en condiciones $NER^+$ revelan que GEM es genotóxico en células somáticas, en las que induce tanto recombinación mitótica como mutaciones puntuales y/o deleciones. Además, parece que la actividad intracelular de GEM, o de sus metabolitos, se mantiene durante largo tiempo. Por último, el que estos resultados positivos se hayan obtenido con concentraciones entre 0,1 y 1 μM, ya que concentraciones superiores son muy tóxicas, indica que este compuesto es especialmente activo en células en división.

En condiciones $NER^-$ GEM no induce respuesta positiva en ningún caso y, aunque no se pueda descartar un efecto de la línea utilizada, estos resultados podrían sugerir que se necesita un sistema NER funcional para que los daños que induce sean genotóxicos.

Este trabajo revela que, aunque el principal efecto de GEM en células en división sea la letalidad, a dosis subtóxicas es genotóxico.

## NOTAS:

## ESTUDIO DE LA GENOTOXICIDAD DE ALGUNOS COMPUESTOS DE PLATINO MEDIANTE LA TÉCNICA DEL COMETA

Guillamet E., Creus A., Marcos R.
Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

Una de las características biológicas a resaltar de los compuestos de platino es la acción anticancerígena de alguno de ellos (p.ej. cis-platino). Sin embargo, es bien conocido que muchos agentes antitumorales también tienen el efecto contrario y son genotóxicos. Además, en el caso concreto del platino, también se ha evidenciado que tiene un fuerte carácter alergénico. Asimismo, hay que señalar que los compuestos de platino no sólo tienen importancia a nivel médico, sino que también la tienen como contaminantes ambientales.

En este trabajo se ha estudiado la genotoxicidad de varios compuestos de platino en una línea celular linfoblastoide humana (TK6), mediante la técnica del cometa o SCGE (*Single Cell Gel Electrophoresis*), que detecta roturas de cadena simple en la molécula de DNA.

Los compuestos elegidos poseen diferentes características químicas las cuales podrían determinar diferencias en su genotoxicidad. En concreto, los compuestos estudiados han sido: cis-platino, dicloruro de platino, tetracloruro de platino, tetracloroplatinato de amonio, hexacloroplatinato de amonio y oxaliplatino.

Los resultados obtenidos indican no sólo la importancia del estado de oxidación de los compuestos de platino, sino también su conformación e interacción con el DNA. Así, vemos que los compuestos con estado de oxidación IV (tetracloroplatinato de amonio y hexacloroplatinato de amonio) no producen una respuesta positiva en el ensayo del Cometa. Por el contrario, los compuestos con estado de oxidación II (dicloruro de platino y tetracloroplatinato de amonio) sí que producen roturas en el DNA u otros tipos de lesiones como enlaces cruzados (cis-platino y oxaliplatino).

## NOTAS:

## ENSAYOS *IN VITRO* DE MUTACIÓN GÉNICA EN CÉLULAS DE MAMÍFERO. EL ENSAYO DE LINFOMA DE RATÓN (MLA)

Soriano C., Marcos R.
Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

Ningún ensayo por sí solo tiene la capacidad de detectar todos los compuestos genotóxicos, por lo que es necesario el uso de baterías de ensayos. A pesar de que el uso de estas baterías es común a escala internacional, no existe un consenso sobre los ensayos que las deben componer, aunque prevalece un interés general en la estandarización de esta batería de ensayo para todos los países. Uno de los temas más discutidos por los expertos es la necesidad de incorporar a esta batería un ensayo *in vitro* de mutación génica en células de mamífero (MCGM), en particular el denominado *Mouse Lymphoma Assay* (MLA). El MLA es capaz de cuantificar alteraciones genéticas inducidas por compuestos químicos o físicos que afectan a la expresión del gen timidina kinasa (TK) en células linfoblastoides de ratón (L5178Y, tk +/-). Este ensayo es capaz de detectar un amplio rango de alteraciones genéticas, detectando tanto mutágenos como clastógenos, y es considerado como el más sensible de los ensayos *in vitro* de mutación génica en células de mamífero. En esta comunicación se presenta la puesta a punto de este ensayo de genotoxicidad, valorando su buen funcionamiento e interés práctico, frente a un grupo de mutágenos estándar, y se discuten algunos aspectos metodológicos relacionados con el ensayo. La obtención de clones mutantes tras un tratamiento con un agente genotóxico nos puede servir como material a partir del cual analizar espectros moleculares que nos den información sobre los mecanismos de mutagénesis y modo de acción del agente estudiado. Además, la puesta a punto de este ensayo nos permitirá aplicarlo a una línea linfoblastoide humana (TK6) heterocigótica para el gen *tk* y así poder estudiar la inducción de mutación génica directamente sobre un sistema celular humano.

## NOTAS:

## GENOTOXICIDAD EN EL RATÓN DE CAMPO (*APODEMUS SYLVATICUS*) EXPUESTO A FUENTES COMPLEJAS DE CONTAMINACIÓN

de Lapuente J[1], Acosta M[1], Delgado E[2], Torres M[1], Ripoll A[1], González-Linares J[1], Cruz R[1] y Borràs M[1]

1: Unitat de Toxicología Experimental i Ecotoxicología, Parc Científic de Barcelona

2: Departament de Biología Animal Vertebrats, Facultat de Biología, Universitat de Barcelona

Los escenarios reales de exposición medioambiental incluyen con frecuencia la existencia de mezclas complejas de tóxicos, potencialmente interactuantes y sometidos a la acción moduladora del metabolismo y de las condiciones del propio medio.

Buscando una aproximación realista a la evaluación del riesgo, abordamos el estudio del impacto toxicológico de las fuentes complejas de contaminación mediante estudios de campo, utilizando especies centinelas y biomarcadores adecuados de exposición y efecto.

En esta ocasión presentamos dos ejemplos en los que estudiamos la genotoxicidad en el ratón de campo mediante el test de los micronúcleos (MNT) en eritrocitos circulantes.

En el primer ejemplo comparamos animales capturados en las proximidades de tres vertederos de características diversas: Garraf (que recibe los vertidos de Barcelona y su área metropolitana, considerablemente industrializada, y con más de 3000000 de habitantes), Montferrer i Castellbò (en el área rural de La Seu d'Urgell, con unos 11000 habitantes) y Can Mata (Els Hostalets de Pierola, vertidos del área de Barcelona, correspondiente a 1000000 de habitantes aproximadamente; este vertedero implementa unos sistemas superiores de prevención de la contaminación del entorno). Los valores obtenidos son de 6.37 ± 2.9, 4.86 ± 1.9 y 1.79 ± 1.2 por mil, respectivamente.

En el segundo caso estudiamos tres campos de cultivo, en uno de los cuales se estaban aplicando actualmente lodos de depuradora, en otro se habían aplicado hasta hace diez años y en el tercero no se habían utilizado nunca; como control utilizamos una zona virgen, sin actividad agrícola. Los valores de eritrocitos micronucleados por mil son de: 6.69 ± 2.9, 3.69 ± 1.03, 4.34 ± 2.73 y 2.76 ± 1.8, respectivamente.

Los resultados son compatibles con la probabilidad de la exposición y los factores moduladores presentes en cada caso.

## NOTAS:

# ÍNDICE DE AUTORES

# DIRECTORIO DE PARTICIPANTES

## A

Nieves Abril Díaz
Dpto. Bioquímica y Biología Molecular
ETSIAM
Universidad de Córdoba
Ed. Severo Ochoa, planta 2ª. Carretera de Madrid-Cádiz Km 396ª. E-14071 Córdoba
Teléfono: 957-218139
e-mail: bb1abdim@uco.es

Leticia Aguado Ortiz
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985102723
e-mail: aguadoleticia@uniovi.es

Lydia Álvarez Fernández
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985103599
e-mail: alvarezlidia@uniovi.es

Olaya Álvarez Valles
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985103599
e-mail: UO76712@uniovi.es

Isabel Arrieta Sáez
Dpto. Genética, Antropología Física y Fisiología Animal
Facultad de Ciencia y Tecnología
Universidad del País Vasco
Apdo. 644
48080 Bilbao
Teléfono: 946012605/94 601 5952
e-mail: ggparsai@lg.ehu.es

## B

Robert A. Baan
Carcinogen Identification and Evaluation
WHO - International Agency for Research on Cancer
150, cours Albert Thomas

69008 Lyon
FRANCE
Teléfono:
e-mail: baan@iarc.fr

Martí Badal Soler
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935811831
e-mail: marti.badal@uab.es

Miquel Borràs Suarez
Unidad de Toxicología Experimental y Ecotoxicología
Parc Científic de Barcelona
C/ Joseph Samitier 1-5
Teléfono: 934037193
e-mail: mborras@pcb.ub.es

## C

Miguel Ángel Comendador García
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985104195
e-mail: mac@uniovi.es

Amadeu Creus Capdevila
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935812052
e-mail: amadeu.creus@uab.es

Roser Cruz Vaca
Unidad de Toxicología Experimental y Ecotoxicología
Parc Científic de Barcelona
C/ Joseph Samitier 1-5
Teléfono: 934037193
e-mail: rcruz@pcb.ub.es

## F

Rita María Fernández Hernández

Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985102723
e-mail: rmfh@mixmail.com

José Antonio Ferreiro Ríos
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985104195
e-mail: ferreirojose@uniovi.es

## G

Jorge García Martínez
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985102723
e-mail:

Mª Victoria García Ortiz
Dpto. Genética
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales. Edificio Gregor Mendel. Primera planta. 14071-Córdoba
Teléfono: 957 218 979
e-mail: b42gaorm@uco.es

Jorge I González Borroto
Dpto. Toxicología
CIDA S.A.L.
Centro de Investigación y Desarrollo Aplicado, s.a.l.
Centro Industrial Santiga, c/Argenters 6, 08130, Sta Perpétua de Mogoda, Barcelona
Teléfono: 93 719 03 61
e-mail: j.gonzalez@cidasal.com

Emma Guillamet Cros
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935812597
e-mail: emma.guillamet@uab.es

## H

Alba Hernández Bonilla
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935812597
e-mail: alba.hernandez@uab.es

Óscar Herrero Felipe
CSIC - Centro de Ciencias Medioambientales
Laboratorio de Mutagénesis Ambiental
c/ Serrano 115 Dpdo.
28006 - Madrid
Teléfono: 917452500. ext. 219
e-mail: oscar.herrero@ccma.csic.es

## J

Alberto Joven Araus
Dpto. Genética, Antropología Física y Fisiología Animal
Facultad de Ciencia y Tecnología
Universidad del País Vasco
Apdo. 644
48080 Bilbao
Teléfono: 94 601 5952
e-mail: ggparsai@lg.ehu.es

## L

Juan López Barea
Dpto. Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Ed. Severo Ochoa, planta 2ª. Carretera de Madrid-Cádiz Km 396ª. E-14071 Córdoba
Teléfono: 957-218687
e-mail: bb1lobaj@uco.es

## M

Ricardo Marcos Dauder
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935812052

e-mail: ricard.marcos@uab.es

Mª Isabel Martínez Macías
Dpto. Genética
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales. Edificio Gregor Mendel. Primera planta. 14071-Córdoba
Teléfono: 957 218 979
e-mail: q92mamam@uco.es

Rubén David Matesanz Gómez
Dpto. Genética
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales. Edificio Gregor Mendel. Primera planta. 14071-Córdoba
Teléfono: 957 218 979
e-mail: ge2magor@uco.es

Teresa Morales Ruiz
Dpto. Genética
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales. Edificio Gregor Mendel. Primera planta. 14071-Córdoba
Teléfono: 957 218 979
e-mail: b52morum@uco.es

Jennifer Moreno Palomo
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935812597
e-mail: jennifer.moreno@uab.es

## O

Ana Pilar Ortega Galisteo
Dpto. Genética
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales. Edificio Gregor Mendel. Primera planta. 14071-Córdoba
Teléfono: 957 218 979
e-mail: ge2orgaa@uco.es

## P

Leiliane Paiva Sousa

Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935812597
e-mail: leiliane.paiva@uab.es

Eduardo de la Peña de Torres
CSIC. Centro de Ciencias Medioambientales
Laboratorio de Mutagénesis Ambiental
C/ Serrano 115 dpdo.
28006 Madrid
Teléfono: 91-7452500. ext. 219
e-mail: epena@ccma.csic.es

Ana Pérez García
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985103599
e-mail: UO76709@uniovi.es

Giselle Pérez Machado
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935812597
e-mail: giselle.perez@uab.es

Mª Isabel Ponferrada Marín
Dpto. Genética
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales. Edificio Gregor Mendel. Primera planta. 14071-Córdoba
Teléfono: 957 218 979
e-mail: q92pomam@uco.es

María José Prieto Álamo
Dpto. Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Ed. Severo Ochoa, planta 2ª. Carretera de Madrid-Cádiz Km 396ª. E-14071 Córdoba
Teléfono: 957 21 80 82
e-mail: bb2pralm@uco.es

Carmen Pueyo de la Cuesta
Dpto. Bioquímica y Biología Molecular

Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Ed. Severo Ochoa, planta 2ª. Carretera de Madrid-Cádiz Km 396ª. E-14071 Córdoba
Teléfono: 957-218695
e-mail: bb1pucuc@uco.es

## R

Juan Manuel Ramírez Sánchez
Dpto. Genética, Antropología Física y Fisiología Animal
Facultad de Ciencia y Tecnología
Universidad del País Vasco
Apdo. 644
48080 Bilbao
Teléfono: 94 601 5952
e-mail: ggparsai@lg.ehu.es

Rafael Rodríguez Ariza
Dpto. Genética
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales. Edificio Gregor Mendel. Primera planta. 14071-Córdoba
Teléfono: 957 218 979
e-mail: ge1roarr@uco.es

Mª Teresa Roldán Arjona
Dpto. Genética
Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales. Edificio Gregor Mendel. Primera planta. 14071-Córdoba
Teléfono: 957 218 979
e-mail: ge2roarm@uco.es

## S

Ignacio Sancho Martínez
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985102723
e-mail: sanchoignacio@uniovi.es

L. María Sierra Zapico
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985104195

e-mail: lmsierra@uniovi.es

Marta Sierra Zapico
IUOPA
Oncología Médica
Universidad de Oviedo
Hospital Universitario Central de Asturias. Edificio Polivalente A-3ª planta C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985106100. ext.36400
e-mail: sierramarta@uniovi.es

Carolina Soriano Tárraga
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935812597
e-mail: carolina.soriano@uab.es

Susanna Suárez Figueras
Laboratorio De Microbioloxía
Instituto De Investigación E Análises Alimentarias
Universidade De Santiago De Compostela
Rúa Constantino Candeira S/N, 15782 Santiago De Compostela
Teléfono: 981 563100. Ext. 16029
e-mail: ssuarez@usc.es

Jordi Surrallés Calonge
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935811830
e-mail: jordi.surralles@uab.es

## T

Mercedes Télez Sedano
Dpto. Genética, Antropología Física y Fisiología Animal
Facultad de Ciencia y Tecnología
Universidad del País Vasco
Apdo. 644
48080 Bilbao
Teléfono: 94 601 5799 / 94 601 5952
e-mail: ggbtesem@lg.ehu.es

## U

Esther Uriol Egido
Dpto. Biología Funcional e IUOPA
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo
Teléfono: 985102723
e-mail: uriolesther@uniovi.es

## V

Laura Valverde Potes
Dpto. Genética, Antropología Física y Fisiología Animal
Facultad de Ciencia y Tecnología
Universidad del País Vasco
Apdo. 644
48080 Bilbao
Teléfono: 94 601 5952
e-mail: ggparsai@lg.ehu.es

Antonia Velázquez Henar
Dpto. Genética y Microbiología, Grupo de Mutagénesis
Facultad de Ciencias
Universitat Autònoma de Barcelona
Campus de Bellaterra, 08193 Cerdanyola del Vallès
Teléfono: 935813111
e-mail: antonia.velazquez@uab.es

## W

Raymond Waters
Dpt. Pathology
University of Wales
College of Medicine
Cardiff CF14 4XN
U.K.
Teléfono:
e-mail: watersr1@cardiff.ac.uk