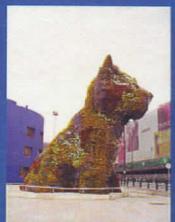


# SEMA 2002

XI REUNIÓN CIENTÍFICA

C-1990  
E.S.



Bilbao, 10, 11 y 12 de julio de 2002

## MUTAGÉNESIS AMBIENTAL

eman ta zabal zazu



Universidad Euskal Herriko  
del País Vasco Unibertsitatea  
Facultad de Ciencias



## ÍNDICE

PROGRAMA .....	1
RESÚMENES DE CONFERENCIAS .....	9
RESÚMENES DE COMUNICACIONES .....	15
ÍNDICE DE AUTORES .....	101
DIRECTORIO DE PARTICIPANTES .....	107

## **COMITÉ DE HONOR**

### **D. Manuel Montero**

*Exmo. y Magco. Sr. Rector de la Universidad del País Vasco*

### **D. Iñaki Azkuna**

*Exmo. Sr. Alcalde de Bilbao*

### **D. Abel Muniategi**

*Exmo. Sr. Viceconsejero de Ordenación del Territorio y Biodiversidad*

### **D. Fernando Cossío**

*Ilmo. Sr. Vicerrector de Investigación y Relaciones Internacionales de la Universidad del País Vasco*

### **D. Leonardo Lorente**

*Ilmo. Sr. Vicerrector de Extensión Cultural y Proyección Universitaria de la Universidad del País Vasco*

### **D. Juan Ramón González**

*Ilmo. Sr. Decano de la Facultad de Ciencias de la Universidad del País Vasco*

## COMITÉ CIENTÍFICO

**Dra. M<sup>a</sup> Isabel Arrieta Sáez**  
*Universidad del País Vasco*

**Dra. Carmen Barrueco Fernández-Cuervo**  
*Instituto de Salud Carlos III, Madrid*

**Dr. Felipe Cortés Benavides**  
*Universidad de Sevilla*

**Dr. Amadeu Creus Capdevila**  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

**Dr. Ricardo Marcos Dauder**  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

**Dr. Eduardo de la Peña de Torres**  
*Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid*

**Dr. Joaquín Piñero Bustamante**  
*Universidad de Sevilla*

**Dra. Carmen Pueyo de la Cuesta**  
*Universidad de Córdoba*

**Dra. Luisa María Sierra Zapico**  
*Universidad de Oviedo*

**Dr. Jordi Surrallés Calonge**  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

## **COMITÉ ORGANIZADOR**

**M<sup>a</sup> Isabel Arrieta Sáez**

*Dpto. Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco*

**Carlos M<sup>a</sup> Lostao Zuza**

*Dpto. Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco*

**M<sup>a</sup> Mercedes Télez Sedano**

*Dpto. Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco*

**Begoña Criado Alonso**

*Instituto Portugués de Oncología, Oporto, Portugal*

**Eduardo Ortiz Lastra**

*Dpto. Especialidades Médico-quirúrgicas, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco*

**Piedad Flores Elices**

*Dpto. Enfermería I, Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad del País Vasco*

**Esther Irurzun Zuazabal**

*Dpto. Enfermería I, Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad del País Vasco*

**Rosa M<sup>a</sup> Alonso Rojas**

*Dpto. Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco*

**Rosa M<sup>a</sup> Jiménez Sanz**

*Dpto. Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco*

**Olga Peñagarikano Ahedo**

*Dpto. Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco*

**Begoña Ortega Azpitarte**

*Dpto. Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco*

## **ORGANISMOS Y ENTIDADES COLABORADORAS**

Gobierno Vasco

Ministerio de Ciencia y Tecnología

Universidad del País Vasco

Comercial Tecnoquímica ENMA, S.L.

## **SEDE DE LA REUNIÓN**

Palacio de Congresos y de la Música *Euskalduna*  
Sala B Terraza  
Avenida Abandoibarra nº 4  
48011 Bilbao

# PROGRAMA

## PROGRAMA

### Miércoles día 10

09:00-10:00 Acto Inaugural del Congreso  
Concierto brevísimo a cargo de Iranzun Bartolomé *soprano* y Mercedes Rodríguez *pianista*.

10:00-11:00 Café y entrega de documentación

10:30-11:00 Café

### SESIÓN 1

#### **Moderadores:**

Dra. María Sierra Zapico, *Universidad de Oviedo*

Dr. Eduardo de la Peña de Torres, *CSIC, Madrid*

11:00-12:00 Conferencia invitada  
**Cytogenetic damage in germ cells of male individuals exposed to environmental agents**  
Dra. Lucia Migliore  
*Università di Pisa (Italia)*

12:00-12.15 **Exclusión preferencial del cromosoma 17 en pacientes tratados con el antihipertensivo atenolol: revisión de los datos toxicológicos obtenidos con dicho fármaco**  
Télez M, Peñagarikano O, Ortega B, Criado B, Flores P, Ortiz E, Lostao CM, Arrieta I.  
*Universidad del País Vasco*

12:15-12:30 **Estudio comparativo de la capacidad genotóxica de dos fármacos antihipertensivos calcioantagonistas**  
Ortega B, Télez M, Peñagarikano O, Criado B, Flores P, Ortiz E, Lostao CM, Arrieta I.  
*Universidad del País Vasco*

12:30-12:45 **Evaluación de la genotoxicidad del cadmio utilizando el ensayo de micronúcleos en linfocitos humanos**  
Sousa LP, Creus A, Marcos R.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

- 12:45-13:00     **Riesgo genotóxico de la exposición ambiental al arsénico en poblaciones humanas**  
Martínez V, Venegas W, Creus A, Marcos R.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*
- 13:00-13:15     **Evaluación genotóxica de derivados furiletilénicos: estudios *in vitro* e *in vivo***  
González J, Creus A, Marcos R.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*
- 13:15-13:30     **Genotoxicity of the insecticides acrinathrin, tralomethrin and methamidophos in cultured human cells**  
Almeda ML, Creus A, Xamena N, Marcos R.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*
- 13:30-15:00     Comida
- SESIÓN 2**       **Moderadores:**  
Dra. Encarna Alejandre Durán, *Universidad de Córdoba*  
Dr. Noel Xamena López, *Universidad Autónoma de Barcelona*
- 15:00-15:15     **Estudio de la genotoxicidad de varios compuestos de arsénico mediante la técnica del cometa**  
Guillamet E, Morillas MJ, Creus A, Marcos R.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*
- 15:15-15:30     **Biomonitorización de individuos expuestos a simazina disuelta en el agua de abastecimiento**  
Suárez S, Rubio A, Sueiro RA, Garrido MJ.  
*Universidad de Santiago de Compostela*
- 15:30-15:45     **Evaluación de la actividad genotóxica de diferentes tratamientos de oxidación usados para eliminar simazina del agua de abastecimiento**  
Suárez S, Rubio A, Sueiro RA, Araujo M, Garrido MJ.  
*Universidad de Santiago de Compostela*
- 15:45-16:00     **Acción directa del producto del gen de la anemia de Fanconi FANCD2 en la reparación del DNA**  
Bogliolo M, Callén E, Marcos R, Surrallés J.

*Universidad Autónoma de Barcelona*

- 16:00-16:15 **Biología telomérica en anemia de Fanconi**  
Callén E, Creus A, Marcos R, Surrallés J.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*
- 16:15-16:30 **Inducción de inestabilidad en las repeticiones de trinucleótidos, asociadas a la distrofia miotónica y al síndrome del X frágil, por estrés mutagénico**  
Fernández L, Piñeiro E, Marcos R, Velázquez A, Surrallés J.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*
- 16:30-17:00 Café
- SESIÓN 3** **Moderadores:**  
Dr. Carlos María Lostao Zuza, *Universidad del País Vasco*  
Dr. José Alhama Carmona, *Universidad de Córdoba*
- 17:00-17:15 **Hay alguna influencia del tabaco en las diferentes alteraciones del TP53 relacionadas con la carcinogénesis de la vejiga?**  
Santos L, Pereira S, Amaro T, Costa C, Lopes P, Criado B.  
*Instituto Portugués de Oncología, Oporto (Portugal)*
- 17:15-17:30 **Hábitos tóxicos y embarazo**  
Irurzun E, del Hierro M, Campo J, Sánchez CE.  
*Universidad del País Vasco*
- 17:30-17:45 **Respuesta a la inducción de dsb y a su modulación por el complejo de reparación ADN-PK en células tumorales humanas**  
Edreira A, Burgillo M.A., López-Martín S, Piñero J, Ortiz T.  
*Universidad de Sevilla*
- 17:45-18:00 **Utilización del ensayo de micronúcleos en células uroteliales como medida del daño genético**  
Espinoza F, Creus A, Marcos R.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*
- 18:00-18:15 **Falta de asociación de los polimorfismos genéticos de las glutathion S-transferasas en la incidencia del cáncer de tiroides**

Hernández A, Céspedes W, Xamena N, Creus A, Galofré P, Marcos R.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

18:15-18:30 **Efecto de la quimioterapia adyuvante en células sanas de pacientes operadas de cáncer de mama mediante el ensayo del cometa**

Uriol E, Menéndez M, Sánchez R, Sierra M, Comendador MA, Sierra LM.

*Universidad de Oviedo*

19:30

Recepción en el Ayuntamiento de Getxo

Visita al Puente Colgante y Puerto Deportivo del municipio de Getxo

Cena en el restaurante *Aspaldiko* (caserío vasco del siglo XV)

NOTA: Salida de autobuses a las 19:00 horas en el Palacio *Euskalduna*

### **Jueves día 11**

#### **SESIÓN 4**

##### **Moderadores:**

Dr. Miguel Ángel Comendador García, *Universidad de Oviedo*

Dr. Amadeu Creus Capdevila, *Universidad Autónoma de Barcelona*

09:30-10:30

Conferencia invitada

##### **Pruebas de genotoxicidad en humanos: detección de daño versus predicción de daño**

Dr. José Miguel García Sagredo

Vicepresidente de la “*European Cytogeneticists Association*”

*Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid*

10:30-10:45

##### **La electroporación de embriones como herramienta para la transgenia en *Drosophila melanogaster***

Portela A, Badal M, Cabré O, Xamena N.

*Universidad Autónoma de Barcelona*

10:45-11:00

##### **Inducción de inestabilidad genómica en la línea germinal de un mutante de *Drosophila* deficiente en la reparación de apareamientos erróneos (*spell*)**

López A, Xamena N, Marcos R, Velázquez A.

*Universidad Autónoma de Barcelona*

11:00-11:15

##### ***Drosophila* como modelo de estudio de la anemia de Fanconi: clonación y análisis molecular de gen FANCD2**

Castillo V, Cabré O, Marcos R, Surrallés J.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

11:15-11:30 **Análisis del elemento transponible *foldback* de *Drosophila melanogaster***

Badal M, Portela A, Xamena N, Cabré O.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

11:30-12:00 Café

**SESIÓN 5 Moderadores:**

Dr. Jordi Surrallés Calonge, *Universidad Autónoma de Barcelona*  
Dr. Joaquín Piñero Bustamante, *Universidad de Sevilla*

12:00-12:15 **Inestabilidad de microsatélites en la línea germinal de los mutantes *spell* y *mus-209* de *Drosophila***

Baida A, López A, Marcos R, Velázquez A.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

12:15-12:30 **Evaluación de la genotoxicidad del cadmio y su actividad frente al dicromato potásico y el etilmetanosulfonato. Estudio con SMART en alas de *Drosophila***

Kossatz E, Rizki M, Xamena N, Creus A, Marcos R.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

12:30-12:45 **Influencia de la mutación *mus308* en la mutagenicidad de clorambucil, melfalán y busulfán en células germinales femeninas de *Drosophila melanogaster***

Hernando J, Comendador MA, Sierra LM.  
*Universidad de Oviedo*

12:45-13:00 **Genotoxicidad de agentes antitumorales en el ensayo del cometa *in vivo* en *Drosophila melanogaster* en distintas condiciones de reparación**

Aguiar S, Arbizu E, Comendador MA, Sierra LM.  
*Universidad de Oviedo*

13:00-13:15 **Efecto protector de *Cymbopogon citratus* stapf. sobre la genotoxicidad de mutágenos modelo en el ensayo smar w/w<sup>+</sup> de *Drosophila melanogaster***

Cápiro N, Sierra LM, Comendador MA.

*Universidad de Oviedo, Universidad de la Habana (Cuba)*

13:15-13:30 **Influencia del arsénico en la genotoxicidad del dicromato potásico y del etilmetanosulfonato. Estudio con el test SMART en alas de *Drosophila***

Rizki M, Kossatz E, Creus A, Xamena N, Marcos R.  
*Universidad Autónoma de Barcelona*

13:30-15:00 Comida

**SESIÓN 6 Moderadores:**

Dra. Rosario Calvo Dúo, *Universidad del País Vasco*  
Dr. Oriol Cabré Fabrè, *Universidad Autónoma de Barcelona*

15:00-15:15 **Variabilidad interindividual en la respuesta farmacológica de metadona: papel de las proteínas de transporte**

Calvo R, Suárez E, Ortega I, Soengas I, Rodríguez M.  
*Universidad del País Vasco*

15:15-15:30 **Patrones cuantitativos de expresión de genes de los sistemas dependientes de tiorredoxina o glutatión en ratón**

Jurado J, Madrid J, Cabrera JM, Prieto MJ, Pueyo C.  
*Universidad de Córdoba*

15:30-15:45 **Análisis comparativo del efecto del butirato de sodio sobre el ciclo celular**

Muñoz S, Álvarez A, García-Orad A.  
*Universidad del País Vasco*

15:45-16:00 **Evaluación mutagénica del AcM h-R3. Ensayo de micronúcleos en médula ósea**

Remigio A, Ruiz T, Subirós N, Rivero Y, García A, Guzmán L.  
*CENPALAB, La Habana (Cuba)*

16:00-16:15 **Evaluación genotóxica del BACTIVEC y el GRISELESF mediante el ensayo de micronúcleos *in vivo***

Curbelo A, Remigio A, Pérez G, Fernández N, Bada A, Rivero Y, Ocaña R.  
*CENPALAB, La Habana (Cuba)*

16:15-17:00 Asamblea General de la SEMA

18:30           Visita guiada al Museo Guggenheim  
Visita a los lugares más emblemáticos de Bilbao  
Cena en el restaurante *Arbola-Gaña* del Museo de Bellas Artes  
NOTA: Salida de autobuses a las 18:15 horas en el Palacio *Euskalduna*

### **Viernes día 12**

#### **SESIÓN 7**

##### **Moderadores:**

Dra. Antonia Velázquez Henar, *Universidad Autónoma de Barcelona*

Dr. Ricard Marcos Dauder, *Universidad Autónoma de Barcelona*

- 09:30-10:30    Conferencia invitada  
**The micronucleus test: its use *in vitro* as an assay to assess genotoxicity and *ex vivo/in vitro* for biomonitoring purposes**  
Dra. Micheline Kirsch-Volders  
*Vrije Universiteit Brussel (Bélgica)*
- 10:30-10:45    **La activación mutagénica de arilaminas por fracciones subcelulares de *Chamaelea gallina* como biomarcador de contaminación ambiental**  
Rodríguez MJ, Rodríguez A, Amezcua O, López J.  
*Universidad de Córdoba*
- 10:45-11:00    **Niveles de 8-oxodG en ADN cromosómico de *Scrobicularia plana* como biomarcador de estrés oxidativo y contaminación ambiental**  
Romero A, Amezcua O, Muñoz JL, López J, Alhama J.  
*Universidad de Córdoba*
- 11:00-11:15    **Evaluación mutagénica con el ensayo de *Salmonella/microsoma* de muestras medioambientales: efluentes de depuradoras y lixiviados de suelos tratados con purines**  
de la Peña E, Muñoz MJ, Carballo M, de la Torre A.  
*CSIC, Madrid*
- 11:15-11:30    **Formación y caracterización mutagénica y citotóxica del nitrosfenol y derivados metilados**  
Cuéllar J, Matesanz R, Ruano E, Jiménez L, Martín A, González S, Lacadena J.  
*Universidad SEK, Segovia*

- 11:30-12:00      Café
- SESIÓN 8**      **Moderadores:**  
Dra. Carmen Barrueco Fernández-Cuervo,  
*Instituto de Salud Carlos III, Madrid*  
Dr. Samuel González Mancebo, *Universidad SEK, Segovia*
- 12:00-12:15      **Efecto del resveratrol sobre la capacidad mutagénica del captán**  
García O, Barea M, Pollastrini MT, Pérez ML, Escaso M, Sanz F.  
*Instituto de Salud Carlos III, Madrid*
- 12:15-12:30      **Cuantificación de la expresión *in vivo* de genes de los sistemas  
tioredoxina y glutatión en *S. cerevisiae***  
Monje F, Michán C, Pueyo C.  
*Universidad de Córdoba*
- 12:30-12:45      **Regulación de la reparación del ADN en *Saccharomyces cerevisiae***  
Michán C, Monje F, Pueyo C.  
*Universidad de Córdoba*
- 12:45-13:00      **Dos polimerasas de síntesis translesión en *Arabidopsis thaliana***  
Alejandro E, Roldán T, Ariza RR, Santiago MJ, Huertas M.D, Ruiz  
M.  
*Universidad de Córdoba*
- 13:00-13:15      **Identificación y caracterización de una familia de enzimas  
reparadoras de ADN específicas de plantas**  
Morales T, Ariza RR, Roldán T.  
*Universidad de Córdoba*
- 13:15-13:30      **El gen ATPOLK de *Arabidopsis thaliana* codifica un homólogo  
vegetal de la ADN polimerasa IV (DinB) de *Escherichia coli***  
García MV, Ariza RR, Roldán T.  
*Universidad de Córdoba*
- 13:30-14:30      Acto de clausura
- 14:30              Comida  
Excursión a una reserva natural

# **RESÚMENES DE CONFERENCIAS**

## CYTOGENETIC DAMAGE IN GERM CELLS OF MALE INDIVIDUALS EXPOSED TO ENVIRONMENTAL AGENTS

Migliore L.

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, Italia

Male reproductive tract disorders have become an important public health issue, as they cause miscarriages and abnormal outcomes in the offspring. In 20% of cases of couple infertility the problem is predominantly male and in up to 40% of men with sperm abnormalities, no specific etiological factor is found. These disorders may be the consequence of environmental or occupational exposure to chemicals, radiation, toxicants and heat. Semen quality analysis, the standard clinical approach to assess male reproductive capacity, can be considered a sensitive biological marker of exposure to toxicants at the work place. This analysis has shown that sperm concentration and total sperm count decline in workers exposed to different classes of toxic agents, such as dibromochloropropane and lead, trichloroethylene and petrochemical compounds. Furthermore, environmental factors, particularly exposure to pesticides and solvents, have been associated with dramatic changes in sperm parameters. Environmental or occupational exposure can also lead to abnormal reproductive outcomes by altering the integrity of genetic material, at chromosome or DNA level, in male germ cells.

In one of our recent studies we investigated sperm DNA integrity in individuals occupationally exposed to styrene. Semen samples were obtained from 46 male workers exposed to styrene and 27 unexposed controls (age range 18-45 years). Exposed individuals had worked for at least two years in the last five years and continuously for six months in factories producing reinforced plastics. Urinary concentration of mandelic acid, a biomarker of recent exposure to styrene was assessed. The Comet assay was performed to evaluate DNA integrity in spermatozoa, as well as semen quality analysis to assess sperm concentration and morphology. Three colour fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) with centromere-specific DNA probes was used to study aneuploidy and diploidy in decondensed sperm nuclei.

We did not find important differences in the results of the standard semen quality analysis between exposed subjects and the reference group. However we found significantly higher DNA fragmentation levels in the group of styrene workers (mean comet tail DNA percentage being  $10.9 \pm 3.0$  and  $7.4 \pm 2.3$  in exposed and unexposed, respectively,  $P < 0,001$ ). The incidence of aneuploidy and diploidy for all tested chromosomes did not result in statistically significant differences between the two groups, with exception of the frequency of nullisomy for sex chromosomes observed in sperm nuclei of non smokers exposed individuals which was significantly higher.

The study suggests that exposure to styrene may result in DNA fragmentation in germ cells of male workers.

**NOTAS:**

## PRUEBAS DE GENOTOXICIDAD EN HUMANOS: DETECCIÓN DE DAÑO VERSUS PREDICCIÓN DE DAÑO

García Sagredo JM.

Servicio de Genética Médica, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid

Tras más de 30 años de historia, las pruebas de genotoxicidad en humanos, principalmente citogenéticas, han ido siguiendo paso a paso la propia historia de la citogenética: aberraciones cromosómicas con tinción homogénea, SCE, dicéntricos, aberraciones con bandas G, MN y, últimamente, detección de translocaciones mediante citogenética molecular.

Con la aplicación paulatina de las diferentes técnicas disponibles en el análisis de poblaciones humanas expuestas a posibles genotóxicos, se ha ido aumentando en especificidad, aumentando en sensibilidad, pero al mismo tiempo se ha ido aumentando en coste personal-tiempo-económico.

El paradigma está en la utilización de técnicas citomoleculares (*whole paint*) para detectar translocaciones que ha permitido, de forma sensible, detectar un daño genético dilatado en el tiempo pero cuyo coste no ha mantenido un paralelismo con la capacidad de detección.

Basándonos en nuestro proyecto actual en el que estudiamos personal hospitalario expuesto a radiaciones ionizantes, analizándose anomalías cromosómicas estables que se comparan con el historial dosimétrico y con una encuesta amplia acerca de multitud de factores de confusión, intentamos de forma crítica evaluar el coste *versus* el poder informativo del test.

El resultado, acorde con recientes publicaciones, es que las expectativas informativas acerca de genotoxicidad dilatada en el tiempo y/o acumulada no se han cubierto.

Por el contrario, existe una opinión emergente sobre la posibilidad que ofrecen test genotóxicos simples y baratos como el CBMN de detectar individuos que siendo normales están en la “cola” de la distribución normal y que serían sujetos con algún tipo de defecto en la reparación o, simplemente, personas “mas sensibles” a determinados genotóxicos.

La discusión se suscita sobre cual puede ser el futuro o donde puede estar la mayor rentabilidad de las pruebas genotóxicas:

- a) detectar situaciones de mayor genotoxicidad/analizar cuantía de daño sufrido por grupos expuestos o, mas bien,
- b) identificar individuos propensos a los que se les debe proteger o recomendar medidas de protección adicionales.

**NOTAS:**

## THE MICRONUCLEUS TEST: ITS USE *IN VITRO* AS AN ASSAY TO ASSESS GENOTOXICITY AND *EX VIVO/IN VITRO* FOR BIOMONITORING PURPOSES

Kirsch-Volders M.

Vrije Universiteit Brussel, Laboratorium voor Cellulaire Genetica, Brussels, Belgium

Micronuclei (MNi) may originate from an acentric chromosome fragment or whole chromosomes lost from the metaphase plate and provide therefore a measure of both chromosome breakage, chromosome loss, chromosome non-disjunction, apoptosis and cell proliferation (M. Kirsch-Volders *et al.*, 1997). An additional advantage of this end-point is that it can be scored relatively easily and in a range of cell types relevant for human biomonitoring, such as lymphocytes, fibroblasts and exfoliated epithelial cells, e.g. oral, nasal urothelial mucosa (for a review see Fenech *et al.*, 1999). By its very nature, a MN requires cell division to take place after damage induction and therefore knowledge of the division kinetics of the studied tissue is a prerequisite to correctly interpret the observed MN frequencies.

The CBMN methodology (Fenech and Morley, 1985), based on inhibition of the actin furrow during anaphase by cytochalasin-B, allows discrimination between cells which did not divide (mononucleated cells) after treatment from those which divided once (binucleated cells) or more (multinucleated cells) *ex vivo/in vitro* and stimulated new applications of the MN test for both *in vitro* genotoxicity testing and human biomonitoring studies. In particular, the *in vitro* MN test on lymphocytes and cell lines received a lot of attention and is now being considered as an advantageous alternative for the *in vitro* chromosome aberration test (for reviews, see ICH, 1995, 1997; UKEMS, 1989, 2000; Kirsch-Volders, 1997; Kirsch-Volders *et al.*, 2000). In combination with molecular probing techniques for specific chromosome regions and/or cytotoxicity tests, the method permits concurrent scoring of additional end-points: chromosome non-disjunction, chromosome rearrangement (nucleoplasmic bridges), excision repaired sites (ARA-C protocol), apoptosis and necrosis (for reviews see Fenech, 1997; Kirsch-Volders *et al.*, 1997).

The *in vitro* micronucleus test on human lymphocytes for assessment of genotoxicity was successfully applied by us in combination with the FISH methodology to assess thresholds for induction of chromosome loss/chromosome non-disjunction and apoptosis by spindle inhibitors (Elhajouji *et al.*, 1995, 1997; Verdoodt *et al.*, 1999; Decordier *et al.*, 2002).

As far as biomonitoring of workers exposed to mutagens/carcinogens is concerned, our laboratory proposed a new protocol for the *ex vivo/in vitro* micronucleus assay (Kirsch-Volders *et al.*, 2001) and applied this protocol for several biomonitoring studies performed in collaboration with other teams within the Belgian federal programme for the protection of workers exposed to mutagens/carcinogens (see the CRIOS website <http://cdfc.rug.ac.be/healthrisk>). Results will be presented about MN frequencies (and other

biomarkers for genotoxicity) in workers exposed to hard metal dust (De Boeck *et al.*, 2000) and ionising radiation (Touil *et al.*, 2000, 2002).

The micronucleus is therefore a promising methodology; it is fast, easy and allows assessment of different genotoxic endpoints. However, full care should be taken of correct follow-up of cell kinetics to avoid wrong conclusions.

## REFERENCES

- De Boeck M, Lardau S., Buchet J.P., Kirsch-Volders M. and D. Lison. Absence of significant genotoxicity in lymphocytes and urine from workers exposed to moderate levels of cobalt-containing dust : a cross-sectional study. *Env. Mol. Mutagenesis*, 36(2):151-160, 2000
- De Cordier I., Dillen L., Cundari E. and M. Kirsch-Volders. Elimination of micronucleated cells by apoptosis after treatment with inhibitors of microtubules. *Mutagenesis*, in press, 2002
- Elhajouji A., Van Hummelen P. and M. Kirsch-Volders. Indications for a threshold of chemically induced aneuploidy *in vitro* in human lymphocytes. *Environ. Mol. Mutagen.* 26:292-304, 1995
- Elhajouji A., Tibaldi F. and M. Kirsch-Volders. Indication for thresholds of chromosome non-disjunction versus chromosome lagging induced by spindle inhibitors *in vitro* in human lymphocytes. *Mutagenesis* 12:133-140, 1997
- Fenech M. and A.A. Morley. Measurement of micronuclei in human lymphocytes. *Mutat. Res.* 148:29-36, 1985
- Fenech M. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method. *Mutat. Res.* 392:11-18, 1997
- Fenech M., Holland N., Chang W.P., Zieger E. and S. Bonassi. The HUMAN MicroNucleus Project - an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat. Res.* 428:271-283, 1999
- Kirsch-Volders M. Towards a validation of the micronucleus test. *Mutat. Res.* 392:1-4, 1997
- Kirsch-Volders M., Elhajouji A., Cundari E. and P. Van Hummelen. The *in vitro* micronucleus test : a multi-end-point assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. *Mutat. Res.* 392:19-30, 1997
- Kirsch-Volders M., Sofuni T., Aardema M., Albertini S., Eastmond D., Fenech M., Ishidate M. Jr., Lorge E., Norppa H. Sorallés J., von der Hude W. and A. Wakata. Report for the *in vitro* micronucleus assay working group. *Mutat. Res.* 35:167-172, 2000
- Kirsch-Volders M. and M. Fenech. Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis-block micronucleus assay for biomonitoring purposes. *Mutagenesis*, 16(1):51-58, 2001
- Touil N., Elhajouji A., Thierens H. and M. Kirsch-Volders. Analysis of chromosome loss and chromosome segregation in cytokinesis-blocked human lymphocytes: non-disjunction is the prevalent mistake in chromosome segregation produced by low dose exposure to ionizing radiation. *Mutagenesis* 15(1):1-8, 2000
- Touil N., Vande Aka P., Buchet J.P., Thierens H. and M. Kirsch-Volders. Assessment of Genetic effects related to chronic low level exposure to ionising radiation using biomarkers for DNA damage and repair. *Mutagenesis*, 17:3, 2002.
- Verdoordt B., Decordier I., Geleyns K., Cunha M., Cundari E. and M. Kirsch-Volders. Induction of polyploidy and apoptosis after exposure to high concentrations of the spindle poison nocodazole. *Mutagenesis* 14:513-520, 1999.

---

## NOTAS:

Participantes 3

Comunicaciones 42

Asistentes 100

SEVA

# RESÚMENES DE COMUNICACIONES

## **EXCLUSIÓN PREFERENCIAL DEL CROMOSOMA 17 EN PACIENTES TRATADOS CON EL ANTIHIPERTENSIVO ATENOLOL: REVISIÓN DE LOS DATOS TOXICOLÓGICOS OBTENIDOS CON DICHO FÁRMACO**

Télez M, Peñagarikano O, Ortega B, Criado B, Flores P, Ortiz E, Lostao CM, Arrieta I.

Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco

Los primeros estudios de nuestro equipo testaron la posible capacidad genotóxica de la exposición *in vivo* e *in vitro* al fármaco antihipertensivo  $\beta$ -bloqueante atenolol mediante los ensayos de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) y micronúcleos (MN) en cultivos de linfocitos humanos de sangre periférica. El origen de los MN fue determinado mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH) utilizando una sonda centromérica que hibrida con todos los cromosomas humanos. Los resultados de estos estudios permitieron señalar la actividad principalmente aneugénica del atenolol *in vivo*. Esto es, se encontró un aumento claramente significativo en la frecuencia de MN en los pacientes tratados con atenolol y la FISH determinó que habían sido originados por pérdidas cromosómicas. Quedaba por conocer, sin embargo, el o los cromosomas concretos a partir de los que derivaban dichos MN.

El presente trabajo recopila los estudios paralelos y posteriores que han sido llevados a cabo por nuestro equipo.

Por una parte, la muestra analizada en los primeros estudios ha sido ampliada de 4 a 11 pacientes hipertensos en tratamiento con atenolol y de 4 a 9 individuos sanos constituyentes de la muestra control. Los resultados de los ensayos de SCE y MN tras la exposición *in vivo* e *in vitro* al atenolol, así como de la FISH, no varían respecto de los iniciales, reforzando la conclusión de una actividad principalmente aneugénica del fármaco *in vivo*.

Por otra parte, se ha aplicado el ensayo de anomalías cromosómicas estructurales (sCA) en cultivos de linfocitos de sangre periférica de los 11 pacientes y de los 9 individuos control, estudiando el efecto de la exposición tanto *in vivo* (en el grupo de pacientes) como *in vitro* (en el grupo control tras añadir la sustancia a ensayar al medio de cultivo en una concentración similar a la encontrada en el plasma de los pacientes). Los resultados obtenidos permiten señalar el escaso efecto del atenolol para inducir sCA *in vivo* e *in vitro*, al no haberse encontrado diferencias significativas en la frecuencia de anomalías entre los distintos grupos estudiados. Estos resultados son concordantes con los obtenidos en los ensayos de SCE y MN, en el sentido de que refuerzan de nuevo la conclusión de la actividad preferentemente aneugénica del atenolol.

Además de la frecuencia y tipos de sCA, se ha analizado también su distribución en los cromosomas estudiando para ello la expresión de sitios frágiles (FS). No se han encontrado grandes diferencias en cuanto a los FS específicos expresados en cada grupo, su frecuencia y orden de expresión, a excepción del hecho de que la banda

17q12-21, donde no se ha localizado ningún FS conocido por el momento, ha resultado estar implicada exclusivamente en el grupo de pacientes, ocupando el quinto puesto en orden de expresión y apareciendo en el 65% de los individuos integrantes del grupo.

En base a estos resultados, y con el objeto de estudiar si el cromosoma 17 se ve envuelto preferentemente en los procesos de pérdida cromosómica que originan los MN inducidos por el atenolol *in vivo*, se ha aplicado FISH con una sonda de pintado cromosómico de dicho cromosoma al ensayo de MN. Los resultados obtenidos señalan un aumento altamente significativo en la frecuencia de MN que contienen el cromosoma 17 en los pacientes, indicando, por tanto, su exclusión preferencial.

Estudios recientes aportan evidencias considerables de la existencia de un *locus* de susceptibilidad a la hipertensión arterial en el cromosoma 17, lo cual supone una base a nuestros resultados.

---

**NOTAS:**

## ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD GENOTÓXICA DE DOS FÁRMACOS ANTIHIPERTENSIVOS CALCIOANTAGONISTAS

Ortega B, Téllez M, Peñagarikano O, Criado B, Flores P, Ortiz E, Lostao CM, Arrieta I

Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco

En un estudio previo realizado por nuestro equipo, se vio que el fármaco antihipertensivo, del grupo de los  $\beta$ -bloqueantes, atenolol, mostraba una actividad aneugénica *in vivo*. Consecuentemente se llevó a cabo el análisis de la capacidad genotóxica de otro fármaco de diferente mecanismo de acción, el nimodipino, que mostró una actividad aneugénica *in vitro*. De acuerdo con estos resultados, los siguientes objetivos propuestos fueron: corroborar los resultados obtenidos ampliando la muestra estudiada, y comprobar si la actividad encontrada se daba en todos los fármacos con un mismo mecanismo de acción o, por el contrario, existían diferencias en la capacidad genotóxica de fármacos del mismo grupo.

Los fármacos objeto de este estudio son dos calcioantagonistas: el nimodipino y el nicardipino. La genotoxicidad del nimodipino y del nicardipino fue estudiada citogenéticamente analizando su capacidad para inducir intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) y micronúcleos (MN). Además, para determinar el origen de los MN se realizó hibridación *in situ* fluorescente (FISH) con sondas centroméricas.

El estudio *in vivo* se realizó, por un lado, en 10 pacientes bajo tratamiento antihipertensivo con nimodipino y, por otro lado, con 10 pacientes bajo tratamiento con nicardipino. El estudio *in vitro* se llevó a cabo con 10 individuos control añadiendo al medio de cultivo el fármaco objeto de estudio en una concentración final similar a los niveles encontrados en plasma (control/medio).

Los resultados del análisis para cada uno de los fármacos fueron bastantes similares. No se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de SCE inducidos por ambos fármacos, tanto en el estudio *in vivo* como *in vitro*. El análisis de MN *in vivo* tampoco mostró diferencias. Por otro lado, se encontró un importante aumento, estadísticamente significativo, en los controles/medio de ambos fármacos con respecto a los individuos control. Los resultados de la FISH demostraron que el daño inducido *in vitro* es debido fundamentalmente a pérdidas cromosómicas.

En resumen, se comprueba el efecto aneugénico *in vitro* del nimodipino tras haber ampliado la muestra y hacemos extensible este efecto a otro calcioantagonista, el nicardipino. Actualmente estamos ampliando el estudio a otros calcioantagonistas; cuando éste finalice, llegaremos a una conclusión más definitiva en relación a este grupo de fármacos antihipertensivos.

**NOTAS:**

## EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD DEL CADMIO UTILIZANDO EL ENSAYO DE MICRÓNÚCLEOS EN LINFOCITOS HUMANOS

Sousa LP, Creus A, Marcos R.

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

El cadmio es un metal pesado que se encuentra como contaminante en el ambiente debido, fundamentalmente, a la actividad humana. De acuerdo con la IARC, el cadmio es un agente carcinogénico en humanos. Sin embargo, de los resultados obtenidos hasta el momento con compuestos de cadmio, se desprende que sus mecanismos de acción genotóxica todavía no están bien dilucidados. Algunos estudios han puesto de manifiesto la capacidad del cadmio para potenciar los efectos genotóxicos de distintos agentes mutagénicos, y se ha propuesto que un posible mecanismo para explicar este sinergismo sea debido a que el cadmio reduzca y/o inhiba la capacidad de reparación.

En este contexto, el presente trabajo tiene como objetivo investigar *in vitro*, utilizando el ensayo de micronúcleos en linfocitos humanos de sangre periférica, la posible interferencia del cadmio sobre los mecanismos de reparación del daño inducido por la bleomicina (agente mutagénico radiomimético). Para ello, se obtuvieron muestras de sangre de tres mujeres sanas, no fumadoras, no consumidoras de alcohol y de 23, 26 y 29 años de edad. Los experimentos consistieron en distintos tratamientos con cadmio (Cd; 0,5 y 5  $\mu$ M), bleomicina (BML; 15 y 30  $\mu$ g/mL) y tratamientos simultáneos con cadmio y bleomicina (Cd 0,5  $\mu$ M + 15  $\mu$ g/mL BLM; Cd 0,5  $\mu$ M + 30  $\mu$ g/mL BLM y Cd 5  $\mu$ M + 15  $\mu$ g/mL BLM). Los tratamientos se realizaron en dos tiempos distintos: al inicio de los cultivos y 44 horas después.

Los resultados obtenidos indican una variabilidad en la respuesta a la bleomicina según donantes y que el cadmio no ejerce efectos citotóxicos y/o genotóxicos detectables, al menos a las concentraciones utilizadas. Asimismo, el cadmio no parece modular el daño genotóxico inducido por la bleomicina. De estos resultados se desprende que el cadmio no actúa sobre los mecanismos de reparación, al menos sobre los que actúan en la reparación del daño genético inducido por la bleomicina.

**NOTAS:**

## **RIESGO GENOTÓXICO DE LA EXPOSICIÓN AMBIENTAL AL ARSÉNICO EN POBLACIONES HUMANAS**

Martínez V<sup>1</sup>, Venegas W<sup>2</sup>, Creus A<sup>1</sup>, Marcos R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, <sup>2</sup>Departamento de Biología Molecular, Universidad de Concepción, Chile

El arsénico (As) es un carcinógeno para los seres humanos expuestos en forma crónica. Debido a su amplia y heterogénea distribución el As es causa de problemas de salud en diversos países como Argentina, Chile, Hungría, India, Méjico, Taiwan, etc.

La exposición crónica a altos niveles de As en el agua (hidroarsenicismo), se ha relacionado con varias enfermedades, incluyendo diversos tipos de cáncer. Los resultados obtenidos hasta el momento son contradictorios y, además, no se dispone de un modelo de experimentación animal adecuado para estimar los efectos del As en humanos, debido a las diferencias metabólicas. Por consiguiente, es importante la biomonitorización de aquellas poblaciones humanas expuestas a este elemento.

El uso de marcadores tempranos de efectos genotóxicos, como los micronúcleos (MN), para la evaluación del riesgo genético al que se encuentra la población crónicamente expuesta, es una herramienta útil para detectar aumentos significativos en la frecuencia de MN en una fase anterior a la manifestación de algún tipo de cáncer u otra enfermedad asociada al hidroarsenicismo.

La zona norte de Chile tiene una alta concentración de As en los suelos y en las aguas, superando más de 20 veces el nivel máximo permitido en la norma internacional (0,05 mg/L), llegando a valores de 1,09 mg/L en la región de Antofagasta. En esta región, la incidencia de cáncer broncopulmonar y de vejiga es 3 veces superior a la encontrada en el resto del país, y también se han observado aumentos en la frecuencia de enfermedades cardiovasculares, malformaciones congénitas y abortos.

En el presente trabajo, se ha estudiado un total de 217 individuos, de los cuales 106 son personas expuestas y los 111 restantes corresponden al grupo control, residente en la ciudad de Concepción, en donde no se han detectado niveles significativos de As ni en suelo ni en agua. Se recogieron muestras de agua de las distintas zonas estudiadas, muestras de sangre para determinar el nivel de MN en linfocitos de sangre periférica, y muestras de orina para estimar las dosis absorbidas en ambas poblaciones. El análisis de los primeros resultados indica que los individuos expuestos tienen un contenido de As en orina que es del orden del doble del valor hallado en los controles y, asimismo, presentan un aumento en la frecuencia de MN en linfocitos.

**NOTAS:**

## **EVALUACIÓN GENOTÓXICA DE DERIVADOS FURILETILÉNICOS: ESTUDIOS *IN VITRO* E *IN VIVO***

González J, Creus A, Marcos R.

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

El objetivo de este estudio es la evaluación genotóxica de tres derivados furiletilénicos: 2-furil-1-nitroeteno (G-0), 1-(5-bromofur-2-yl)-2-nitroeteno (2-BNF) y 1-(5-bromofur-2-yl)-2-bromo-2-nitroeteno (G-1). Para los tres derivados se han llevado a cabo estudios de genotoxicidad en cultivos de linfocitos humanos, usando la técnica de micronúcleos (MN) con bloqueo de la citocinesis, así como el ensayo de intercambios entre cromátidas hermanas (SCEs).

Los resultados muestran que, en los rangos de dosis estudiados, ninguno de los compuestos induce la formación de micronúcleos en presencia / ausencia de la fracción metabólica S9. En el ensayo de SCEs, y principalmente en ausencia de S9 mix, los tres derivados indujeron un aumento en la frecuencia de SCEs. Este incremento desapareció o alcanzó niveles biológicamente no significativos cuando se estudiaron en presencia de activación metabólica. Se observaron efectos citotóxicos / citostáticos dependiente de la dosis para los tres compuestos, fundamentalmente en ausencia de S9, observándose una reducción significativa de la proliferación celular tanto en el CBPI (MN) como en el PRI (SCE). La citotoxicidad disminuyó en los estudios llevados a cabo en presencia de la mezcla S9. El ensayo de micronúcleos en médula ósea de ratón se ha usado para evaluar la genotoxicidad *in vivo* de estos derivados, teniéndose hasta el momento resultados con el compuesto G-0. En este estudio se han obtenido resultados negativos después de una administración única intraperitoneal y muestreo a las 24 y 48 horas posteriores al tratamiento. La frecuencia de eritrocitos policromáticos micronucleados en médula ósea no aumentó en ninguna de las dosis estudiadas, ni en ninguno de los tiempos de toma de muestra, a pesar de que se observaron efectos citotóxicos en la médula de los animales tratados con las dosis altas. Por tanto, los resultados globales de este estudio muestran una baja genotoxicidad de estos derivados, principalmente en presencia de enzimas metabólicas, tanto *in vitro* como *in vivo*.

**NOTAS:**

## GENOTOXICITY OF THE INSECTICIDES ACRINATHRIN, TRALOMETHRIN AND METHAMIDOPHOS IN CULTURED HUMAN CELLS

Almeda ML, Creus A, Xamena N, Marcos R.

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

Pesticides enhance public health and the environment when they are used properly and wisely. The benefits of pesticide use are meaningless, if pollution occurs through mis-use and/or carelessness. For a pesticide to be effective, it must be applied at the right time and at the correct rate and volume. Any pesticide that is off-target is a pollutant and can be dangerous. Among the possible health risk effects of unavoidable exposure to pesticides, the genotoxic risks play a paramount importance.

In this context, and following the different studies carried out by the Group of Mutagenesis of the UAB, three pesticides (which consisted of 2 pyrethroids, Acrinathrin and Tralomethrin, and an organophosphate, Methamidophos) were evaluated to test their possible genotoxicities.

For genotoxicity testing of the selected pesticides, we have utilized the Micronucleus Assay (with and without metabolic activation by the S-9 fraction), by using cultured peripheral blood lymphocytes. This assay allows us to measure both its clastogenic and aneugenic effects, and also give us information upon the role of metabolic activation in the modulation of their genotoxic potentials.

The results we have obtained on the pyrethroids revealed similar cytotoxic indices and proved to be more toxic than the organophosphate, Methamidophos. Thus, 0.05 mM of both pyrethroid compounds showed significant decreases in the CBPI indices, whereas concentrations of about 1.0 mM of Methamidophos were required to induce significant toxicities. Likewise, neither of the insecticides utilized showed to induce significant increases in the frequency of BNMN (binucleated cells with micronucleus), and has since been considered to be non-genotoxic. Moreover, even upon metabolic activation, it did not modify the lack of genotoxicity of the 3 pesticides.

In conclusion, it seemed that under our conditions of testing, none of the three pesticides evaluated, showed to induce genotoxic effects in human cells treated *in vitro*.

**NOTAS:**

## **ESTUDIO DE LA GENOTOXICIDAD DE VARIOS COMPUESTOS DE ARSÉNICO MEDIANTE LA TÉCNICA DEL COMETA**

Guillamet E, Morillas MJ, Creus A, Marcos R.

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

El arsénico es un contaminante ambiental del aire, agua y suelo, expandido por todo el mundo, aunque con particular incidencia en determinadas áreas. El gran interés que suscita este metal es debido a que, a pesar de su reconocido papel carcinogénico en humanos, no está claro su mecanismo de acción. Así, aunque algunos autores han observado que el arsénico puede ser genotóxico, otros no encuentran esta actividad observando, por el contrario, actividad antígenotóxica. Una explicación a estas discrepancias podría venir dada por las diferentes formulaciones químicas ensayadas, ya sea en su forma orgánica o inorgánica.

Para determinar el papel que juegan las distintas formulaciones del arsénico, en este trabajo se ha evaluado la posible genotoxicidad de 8 compuestos de arsénico: arsenobetaina, ácido dimetil arsónico, ácido monometil arsónico, arsenito sódico, arsenato sódico, hexafluorarsenato de sodio, yoduro de tetrametil arsonio y cloruro de tetrafenil arsonio. La potencialidad genotóxica se ha evaluado mediante la técnica del Cometa o SCGE (Single Cell Gel Electrophoresis), que nos permite detectar roturas de cadena simple en la molécula de DNA, habiéndose utilizado para este estudio la línea celular linfoblastoide TK6.

Los resultados obtenidos hasta el momento indican que tan solo la forma inorgánica arsenito sódico actúa como genotóxica, mostrando el compuesto cloruro de tetrafenil arsonio unos valores que se aproximan a la significación. Estos resultados corroboran que los compuestos inorgánicos son más potentes, en términos genotóxicos, que las formas metiladas resultantes de su metabolización.

**NOTAS:**

## **BIOMONITORIZACIÓN DE INDIVIDUOS EXPUESTOS A SIMAZINA DISUELTA EN EL AGUA DE ABASTECIMIENTO**

Suárez S, Rubio A, Sueiro RA, Garrido MJ.

Instituto de Investigación e Análises Alimentarias, Laboratorio de Microbiología, Universidad de Santiago

Desde los años 60, el uso de herbicidas de la familia de las s-triazinas ha aumentado considerablemente. Debido a este uso dichos compuestos pueden llegar a contaminar tanto aguas superficiales como manantiales. A causa de esta práctica la contaminación del agua de bebida ha aumentado en estas últimas décadas. Un ejemplo de este hecho es la presencia de simazina, un herbicida de la familia de las s-triazinas, en algunos ríos, y pantanos de los que se obtiene el agua para el consumo humano en la comarca de Llerena (Badajoz).

El objetivo de este estudio es determinar el riesgo para las poblaciones humanas expuestas a simazina en el agua de abastecimiento, así como a través de los alimentos. Con este fin, hemos analizado dos marcadores citogenéticos de dos poblaciones, una expuesta y otra como control. El grupo expuesto está formado por individuos residentes en la comarca de Llerena y donde se han detectado altos niveles de simazina en el agua de abastecimiento. La población control incluye individuos sanos que nunca han estado en contacto con pesticidas.

Los ensayos usados en este trabajo fueron el de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) y micronucleos (MN) en linfocitos de sangre periférica.

Los resultados obtenidos no muestran diferencias en los marcadores estudiados en las dos poblaciones analizadas. Así pues, estos resultados sugieren la ausencia de riesgo genotóxico asociado a la exposición por simazina.

Este trabajo ha sido financiado por Fondos FEDER y CICYT (1FD97-2222-C03-03)

**NOTAS:**

## **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GENOTÓXICA DE DIFERENTES TRATAMIENTOS DE OXIDACIÓN USADOS PARA ELIMINAR SIMAZINA DEL AGUA DE ABASTECIMIENTO**

Suárez S, Rubio A, Sueiro RA, Araujo M, Garrido MJ.

Instituto de Investigación e Análises Alimentarias, Laboratorio de Microbiología, Universidad de Santiago

La presencia de residuos de simazina en agua tuvo una importante repercusión social y económica en Extremadura en los años 1997-1998.

Existen algunos tratamientos que pueden eliminar dicho herbicida del agua. Sin embargo, se conoce que muchos tratamientos de eliminación de compuestos disueltos en agua pueden ser tóxicos debido a la generación de compuestos reactivos que presenten dicha actividad. Así pues, en este trabajo se ha evaluado la actividad genotóxica de tres tratamientos de oxidación. Los métodos analizados son: la ozonización, ozonización combinada con peróxido de hidrógeno, y la oxidación por Fenton (sales ferrosas con peróxido de hidrógeno).

Para evaluar el potencial genotóxico de dichos tratamientos se han usado ensayos procariontas y eucariotas. Específicamente, los ensayos de mutación reversa con *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*, así como los de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) y micronúcleos (MN) en linfocitos de sangre periférica.

Los resultados obtenidos en este estudio fueron negativos en los tres tipos de tratamientos analizados, tanto en presencia como en ausencia de activación metabólica S9.

Bajo las condiciones de este trabajo, nuestros resultados indican que los tratamientos de oxidación analizados no son un riesgo para la salud pública.

Este trabajo ha sido financiado por Fondos FEDER y CICYT (1FD97-2222-C03-03)

**NOTAS:**

## ACCIÓN DIRECTA DEL PRODUCTO DEL GEN DE LA ANEMIA DE FANCONI FANCD2 EN LA REPARACIÓN DEL DNA

Bogliolo M, Callén E, Marcos R, Surrallés J.

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

La anemia de Fanconi (FA) es un síndrome genético caracterizado por fragilidad cromosómica, malformaciones congénitas, alteraciones hematológicas severas y una altísima predisposición al cáncer. Se han clonado 6 de los 8 genes implicados en FA (FANCA, B, C, D1, D2, E, F, y G). Las proteínas FANCA, C, E, F y G forman un complejo nuclear que se requiere para la activación vía monoubiquitinación de FANCD2 en respuesta al daño genético inducido por la MMC y la radiación ionizante o la ultravioleta. FANCD2 activa se une a la proteína BRCA1 de reparación de dobles roturas por recombinación homóloga, lo que sugiere que FANCD2 es el gen clave en FA. En este trabajo hemos analizado si FANCD2 participa directamente en la reparación. Para ello hemos inducido daño de forma localizada en el núcleo a base de irradiar fibroblastos humanos con rayos UVC a través de un filtro *nucleopore* con poros circulares de 5  $\mu\text{m}$ . La luz UVC ( $60\text{J}/\text{m}^2$ ) que pasa a través del poro induce dímeros de pirimidina y roturas de forma localizada en el núcleo. El sitio dañado se visualiza con anticuerpos anti-dímeros de pirimidina y simultáneamente se localiza FANCD2 con anticuerpos específicos utilizando un fluorocromo de color diferente. Nuestros resultados indican que FANCD2 muestra un patrón nuclear difuso antes o inmediatamente después de inducir daño. FANCD2 se moviliza tras la inducción localizada del daño y se difunde en el núcleo hacia el DNA dañado. FANCD2 forma agregados nucleares exclusivamente en la zona del núcleo dañada. La relocalización a la zona dañada se da de forma progresiva y lenta, ya que la proteína FANCD2 tarda varias horas en llegar al sitio del daño. FANCD2 permanece en el lugar dañado varias horas y se separa del DNA dañado, previsiblemente tras reparar las lesiones, dando nuevamente un patrón nuclear difuso. Así pues, nuestros resultados indican que FANCD2 participa directamente en la reparación del DNA.

**NOTAS:**

## BIOLOGÍA TELOMÉRICA EN ANEMIA DE FANCONI

Callén E, Creus A, Marcos R, Surrallés J.

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

La anemia de Fanconi (FA) es un síndrome genético caracterizado por fragilidad cromosómica, malformaciones congénitas, alteraciones hematológicas severas y una altísima predisposición al cáncer. Dado que los telómeros son cruciales en la estabilidad cromosómica, en la carcinogénesis y en la hematopoyesis, hemos estudiado la biología telomérica en pacientes y líneas celulares FA. Nuestros análisis por FISH cuantitativo indican que los telómeros en FA son 0,68Kb más cortos que en controles sanos de la misma edad. Este acortamiento acelerado se debe no sólo al acortamiento replicativo sino, fundamentalmente, a roturas en la secuencia telomérica. Consecuentemente con la disfunción telomérica, los pacientes FA presentan 10 veces más fusiones cromosómicas terminales que los controles sanos. Para entender las causas de estas fusiones, hemos hecho estudios de inmunohistoquímica en líneas celulares FAA y FAD2, así como en las mismas líneas FA corregidas por transferencia génica con retrovirus. La corrección funcional se comprobó por Western blotting, inmunohistoquímica y respuesta celular y cromosómica a los agentes inductores de enlaces cruzados en el DNA. Los resultados indican que el factor telomérico que protege el telómero de las fusiones, TRF2, se une al telómero independientemente de la ruta FA. Por lo tanto, la presencia de fusiones en FA es independiente de TRF2. Finalmente hemos demostrado que, tras sincronizar las células con nocodazole y citometría de flujo, FANCD2 forma *foci* nucleares exclusivamente en fase S del ciclo celular pero no en G1 o G2-M, de forma parecida a la proteína NBS1 (*Nijmegen breakage syndrome*). El análisis por microscopía láser confocal pone de manifiesto que los *foci* de FANCD2 no colocalizan con TRF2 en fase S, lo que indica que FANCD2, a diferencia de NBS1, no participa en la protección y/o replicación de los telómeros humanos.

**NOTAS:**

## INDUCCIÓN DE INESTABILIDAD EN LAS REPETICIONES DE TRINUCLEÓTIDOS, ASOCIADAS A LA DISTROFIA MIOTÓNICA Y AL SÍNDROME DEL X FRÁGIL, POR ESTRÉS MUTAGÉNICO

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

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

Las repeticiones de trinucleótidos asociadas a enfermedades humanas, como la distrofia miotónica y el síndrome del X frágil, son muy inestables, tanto en la línea somática como en la germinal. Esta inestabilidad está modulada por diferentes factores, incluyendo el tamaño y la pureza de las secuencias repetidas, la selección mitótica de alelos expandidos y los procesos de replicación y de reparación.

En este trabajo se ha estudiado el efecto de agentes mutagénicos en la inestabilidad de las secuencias (CTG)<sub>n</sub> y (CGG)<sub>n</sub> endógenas, asociadas a estas enfermedades, en distintas líneas celulares humanas. El análisis por PCR de estas secuencias en cultivos monoclonales derivados de la línea celular SW480, con un número de repeticiones normal para estos *loci*, mostró que la mitomicina C y, en un menor grado la bleomicina, inducen inestabilidad en estas secuencias. Sin embargo, no se encontraron alteraciones en el mononucleótido BAT-25 analizado paralelamente. Además, el bajo nivel o la ausencia de inestabilidad en estas repeticiones de trinucleótidos observada en líneas celulares deficientes en el sistema de reparación *mismatch* (LoVo y HCT116), y en una de estas líneas corregida para la deficiencia por transferencia cromosómica, indican que la inestabilidad de trinucleótidos inducida es básicamente independiente de este proceso de reparación.

Por otra parte, también hemos observado que la mayoría de los clones de la línea SW480 identificados como inestables después de la exposición a la mitomicina C presentan mutaciones en los dos *loci*, sugiriendo un mecanismo común y específico de inestabilidad inducida para estos trinucleótidos, específico de la línea SW480. Por lo tanto, en este estudio se identifica el estrés mutagénico como un nuevo factor en *trans* implicado en las mutaciones dinámicas asociadas a estas enfermedades.

**NOTAS:**

## **HAY ALGUNA INFLUENCIA DEL TABACO EN LAS DIFERENTES ALTERACIONES DEL TP53 RELACIONADAS CON LA CARCINOGENESIS DE LA VEJIGA?**

Santos L, Pereira S, Amaro T, Costa C, Lopes P, Criado B.

Instituto Portugués de Oncologia, Oporto, Portugal

El carcinoma de células uroteliales (UCC) es la forma más frecuente de cáncer de vejiga e incluye un grupo heterogéneo de enfermedades con características neoplásicas diferentes. Actualmente son pocas las alteraciones genéticas asociadas al desarrollo y progresión de los UCCs, entre las cuales se encuentran las alteraciones del gen TP53.

Diversos estudios sugieren una asociación entre el hábito de fumar y la presencia de mutaciones del TP53 en la carcinogénesis de la vejiga. Algunos autores apuntan a la duración de la exposición a los carcinógenos del humo del tabaco como el factor más crítico en la mutagénesis del TP53 en el cáncer de vejiga.

Por otro lado, el cáncer de vejiga es raro en las primeras décadas de vida. La historia natural y el pronóstico del cáncer de vejiga en pacientes jóvenes (con menos de 40 años) no están bien definidos pero fue sugerida la existencia de diferencias en la biología de estos tumores, con al menos un subgrupo de pacientes jóvenes que presentaban tumores más agresivos.

Cuando analizamos las alteraciones genéticas comparando pacientes con menos de 40 años y pacientes con más de 40 años, resultados previos de nuestro grupo mostraron que había diferencias significativas entre ambos grupos con respecto a las alteraciones del gen TP53. La pérdida de una copia de este gen parece ser uno de los mecanismos de carcinogénesis asociados a pacientes jóvenes.

Teniendo todo esto en consideración, el propósito de este trabajo fue analizar si estas diferencias en la carcinogénesis de la vejiga entre pacientes con menos y con más de 40 años pueden estar relacionadas con un diferente tiempo de exposición al humo del tabaco.

Fueron estudiados 65 tumores primarios, 19 de pacientes jóvenes y 46 de pacientes con más de 40 años. De los 65 casos, 35 correspondían a fumadores y 30 a no fumadores. Fueron utilizados métodos inmunohistoquímicos para el estudio de la expresión de la proteína p53 y métodos de citogenética molecular con una sonda específica para el TP53 para analizar el número de copias de este gen.

De acuerdo con nuestros resultados, tanto los pacientes jóvenes fumadores como los no fumadores presentan una mayor frecuencia de monosomía cuando son comparados con los pacientes de más de 40 años. En los fumadores con más de 40 años hay una reducción significativa en la frecuencia de pérdidas del TP53. Con respecto a la inmunoexpresión de la proteína p53 no encontramos diferencias significativas entre los grupos estudiados.

Estos resultados son concordantes con la idea de que al menos un subgrupo de pacientes jóvenes con cáncer de vejiga presentan una biología tumoral diferente, implicando pérdidas del TP53. También nuestros resultados sugieren que el tiempo de exposición a los carcinógenos del humo del tabaco puede ser un factor importante en la mutagénesis del TP53 en el cáncer de vejiga.

---

**NOTAS:**

## HÁBITOS TÓXICOS Y EMBARAZO

Irurzun I, del Hierro M, Campo J, Sánchez CE.

Departamento de Enfermería I, Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad del País Vasco

Con el presente estudio se pretende valorar el consumo de drogas (legales e ilegales) durante el embarazo, y la relación que estos hábitos pueden tener con abortos o patologías durante el embarazo.

Se ha realizado un estudio epidemiológico descriptivo de los hábitos tóxicos previos al embarazo y durante la gestación de 540 mujeres que acuden a varios centros sanitario de la provincia de Bizkaia.

Para la realización de este estudio se ha diseñado una encuesta, administrada por las matronas del centro, en las consultas de revisión incluidas dentro del programa de atención a la embarazada, durante el primer trimestre del año 2001.

El 31,9% de las mujeres primíparas fumaban antes de la gestación en comparación a un 24,4% de las que ya han tenido un embarazo anterior, esta misma tendencia se mantiene con referencia al hábito de fumar durante el embarazo (13% frente a 8%). Sin embargo, si relacionamos la presencia del hábito y abortos anteriores observamos que en las mujeres que han tenido abortos previos existe una prevalencia del hábito a lo largo de su vida de un 34,6% frente a un 21,7% en las mujeres que no han tenido abortos, esta tendencia se remarca más al estudiar el hábito de fumar durante el embarazo observando que en las mujeres con aborto la prevalencia es de un 14,5% frente a un 7,3% de las mujeres sin abortos.

El 21,1% de las mujeres primíparas bebían alcohol antes del embarazo, existiendo este hábito sólo en el 15,7% de las mujeres multíparas. El consumo de alcohol se reduce drásticamente durante el embarazo (2,4% en las primíparas y 3,0% en las multíparas). Al igual que en el tema del tabaco, el consumo de alcohol es más frecuente en las mujeres que han padecido abortos previos aunque disminuyan el hábito durante el embarazo.

El consumo de drogas ilegales es escaso en la población estudiada, dándose sólo en 8 de las 540 mujeres estudiadas, sin embargo se observa una mayor frecuencia de abortos en las mujeres que consumen alguna de las drogas estudiadas.

Está ampliamente demostrada la influencia de los hábitos tóxicos durante el periodo de la gestación y las anomalías que pueden producir en el embrión, lo cual parece reflejarse en los cambios de hábitos que se producen en las mujeres que ya han tenido embarazos previos, sin embargo, a pesar de no existir conclusiones estadísticamente significativas, este estudio indica una mayor prevalencia de consumo de tabaco, alcohol y drogas en las mujeres con historial de aborto.

Es primordial realizar programas de Educación para la Salud dirigidas a toda la población, y en especial a las mujeres, sobre las consecuencias para la salud del tabaco

y alcohol, no sólo por el riesgo inmediato sino por las posibles alteraciones genéticas que se puedan producir, reflejando alteraciones posteriores durante la gestación.

---

**NOTAS:**

## **RESPUESTA A LA INDUCCIÓN DE DSB Y A SU MODULACIÓN POR EL COMPLEJO DE REPARACIÓN ADN-PK EN CÉLULAS TUMORALES HUMANAS**

Edreira A, Burgillo MA, López S, Piñero J, Ortiz T.

Dpto. Biología Celular, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla

El hecho de que el complejo proteico ADN-PK se active ante la presencia de los extremos de las roturas de cadena doble (dsb) de ADN y se una a ellos, juega un papel fundamental en la reparación de dsb de ADN generados por exposición a radiaciones ionizantes. Células deficientes en cualquiera de las subunidades que constituyen este complejo ADN-PK (ADN-PKcs, Ku-80 o Ku-70) son hipersensibles a la radiación ionizante y son incapaces de reparar las dsb del ADN.

Por otra parte, las diferentes rutas para la estabilización y fosforilación de la proteína P53 (P53-activo) ocurren en respuesta a las dsb producidas por radiaciones o radiomiméticos, de ahí que la inhibición de la reparación de dsb podría inducir una respuesta más sostenida de P53 y es fácil pensar en una relación entre el complejo de ADN-PK y P53.

Basándonos en esta correlación, estudiamos el efecto de 5G y de irradiación sobre el incremento de los niveles proteicos constitutivos de Ku-80 y P53. En ninguna de las líneas tumorales utilizadas, Ku-80 incrementó significativamente como consecuencia de la irradiación, aunque dichos niveles eran diferentes en las distintas líneas celulares, sin embargo, P53 incrementaba sus niveles constitutivos en algunas de las líneas en estudio, especialmente las líneas caracterizadas como radiosensibles. La comparación de datos entre ambas proteínas (P53 y Ku-80) parecen indicar que la activación de P53 por irradiación se corresponde con células con niveles constitutivos bajos de Ku-80.

Ha sido también evaluado, en algunas de las líneas en estudio, el efecto que la inhibición, con Wortmanina, de la subunidad catalítica de ADN-PK (ADN-PKcs) puede tener en el incremento de dsb-DNA (cuantificado por PFGE) y en la muerte celular (determinado por MTT-ELISA), obteniéndose respuestas diferentes en función de radioresistencia/radiosensibilidad.

**NOTAS:**

## UTILIZACIÓN DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS EN CÉLULAS UROTELIALES COMO MEDIDA DEL DAÑO GENÉTICO

Espinoza F, Creus A, Marcos R.

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

En el monitoreo de poblaciones humanas expuestas a agentes genotóxicos es bueno poder tener acceso a aquellas células que se considera que son el blanco del agente que se pretende estudiar, o de sus posibles metabolitos. Teniendo en cuenta que los compuestos son normalmente excretados con la orina, aquellas células en contacto con la orina son *a priori* un buen material para detectar daño genético. Así, las células de desfoliación de la vejiga de la orina se han propuesto como un material adecuado para dichos objetivos. Con estas células, el ensayo de micronúcleos permite detectar daño genético resultado de la acción clastogénica y/o aneugénica, por lo que se puede considerar como una herramienta muy útil para determinar la exposición a agentes con potencialidad genotóxica.

Al comparar las metodologías propuestas por los distintos autores se encuentran diversos protocolos, con propuestas a veces contradictorias, y unos resultados no siempre satisfactorios, lo que sugiere la necesidad de establecer un buen protocolo para este ensayo. En este trabajo se presenta la metodología desarrollada hasta ahora que nos ha permitido obtener preparaciones con a) un número alto de células y b) sin impurezas que dificulten el recuento; que eran dos de los problemas que presentaba el ensayo.

La puesta a punto de la metodología ha sido el primer paso para llevar a cabo un estudio sobre la asociación entre el uso de tintes de cabello y el daño genético. Hay que recordar que el uso de dichos tintes se ha asociado con la presencia de cáncer de vejiga, dada la presencia en orina de diversos metabolitos con clara potencialidad genotóxica. Así, en esta comunicación se presentan los resultados preliminares obtenidos hasta el momento en este estudio, mostrando las frecuencias de micronúcleos observadas en un grupo de personas expuestas y en controles.

**NOTAS:**

## FALTA DE ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE LAS GLUTATION S-TRANSFERASAS EN LA INCIDENCIA DEL CÁNCER DE TIROIDES

Hernández A<sup>1</sup>, Céspedes W<sup>1</sup>, Xamena N<sup>1</sup>, Creus A<sup>1</sup>, Galofré P<sup>2</sup>, Marcos R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, <sup>2</sup>Servei de Medicina Nuclear, Hospitals Universitaris Vall d'Hebron, Barcelona

Las enzimas de la glutation S-transferasa (GST) están involucradas en el metabolismo de distintos agentes genotóxicos, actuando también como eficaces secuestradores de radicales libres. Diferentes estudios ponen de manifiesto que algunos polimorfismos genéticos presentes en las poblaciones humanas constituyen un factor de susceptibilidad al daño genético y que, por lo tanto, los niveles del mismo así como el riesgo de padecer cáncer pueden venir significativamente modulados por el genotipo individual. Podemos considerar, pues, a estos polimorfismos como biomarcadores de susceptibilidad individual.

Así, el presente trabajo pretende determinar la posible asociación entre la incidencia de cáncer de tiroides y la presencia de un determinado genotipo de los genes de las GST. Se han genotipado, mediante RFLP-PCR, 134 pacientes con cáncer de tiroides y 116 controles, todos del área metropolitana de Barcelona, en relación a la presencia / ausencia de distintos alelos de los genes GSTM1, GSTT1 y GSTP1. Para los dos primeros se detecta la presencia de un alelo nulo, caracterizado por una delección importante, mientras que para el gen GSTP1 se detecta un polimorfismo de restricción en el exón 5, sensible a Alw26I.

Cabe destacar, en primer lugar, que las frecuencias obtenidas para los distintos alelos de los tres genes estudiados no difieren significativamente de las encontradas en otras poblaciones europeas. Las *odds ratio* calculadas al comparar las frecuencias observadas entre los pacientes con cáncer de tiroides con las obtenidas en el grupo control, no muestran diferencias significativas para ninguno de los polimorfismos genéticos estudiados. Asimismo, cuando se tienen en cuenta factores tales como el sexo, los hábitos, el tipo de tumor (folicular o papilar), o la edad de su detección, tampoco se encuentran asociaciones, ni cuando se analiza cada gen por separado, ni valorando asociaciones entre las distintos genotipos de los genes estudiados.

En nuestro estudio no podemos concluir que la presencia de uno u otro genotipo de las GST tenga influencia en cuanto a la mayor o menor predisposición a presentar cáncer de tiroides.

**NOTAS:**

## **EFECTO DE LA QUIMIOTERAPIA ADYUVANTE EN CÉLULAS SANAS DE PACIENTES OPERADAS DE CÁNCER DE MAMA MEDIANTE EL ENSAYO DEL COMETA**

Uriol E<sup>1</sup>, Menéndez M<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1,2</sup>, Sierra M<sup>1,2</sup>, Comendador MA<sup>1</sup>, Sierra LM.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA, Universidad de Oviedo, <sup>2</sup>Servicio de Oncología Médica e IUOPA, Hospital Central de Asturias

El cáncer de mama es uno de los tipos de tumores que presentan mayor incidencia en los países occidentales. Numerosos estudios han demostrado que el tratamiento adyuvante, posterior a la tumorectomía, CMF (ciclofosfamida (CTX) oral 100mg/m<sup>2</sup>, metotrexato (MTX) intravenoso 40mg/m<sup>2</sup> y 5-fluorouracilo (5-FU) intravenoso 600mg/m<sup>2</sup>), aplicado en ciclos, que se repiten cada 4 semanas, de 14 días continuos de CTX, con 2 inyecciones de MTX y 5-FU los días 1 y 8, reduce el riesgo de recurrencia del tumor. En este estudio se analiza el efecto de este tratamiento a lo largo del tiempo en linfocitos periféricos, por medio del ensayo del cometa.

Se aislaron linfocitos de sangre periférica y se mantuvieron congelados a -150°C hasta la realización del ensayo del cometa, que se llevó a cabo a pH>13. Las células se tiñeron con bromuro de etidio, se examinaron en un microscopio de fluorescencia, a 400 aumentos, y las imágenes se analizaron con el programa Komet 5 (Kinetic).

Hasta el momento se han analizado 4 pacientes. Los resultados obtenidos indican una alta variabilidad interindividual en la respuesta al tratamiento, con pacientes en los que no se observa respuesta al primer o primeros ciclos de tratamiento, o la respuesta es negativa, y pacientes en los que se obtiene una fuerte respuesta positiva en los primeros ciclos, para después disminuir. De momento, estos resultados no permiten un análisis muy exhaustivo de la utilidad del ensayo del cometa en este tipo de pacientes, sobre todo teniendo en cuenta que no se pueden establecer correlaciones con la respuesta del tumor, puesto que el CMF es un tratamiento adyuvante.

**NOTAS:**

## LA ELECTROPORACIÓN DE EMBRIONES COMO HERRAMIENTA PARA LA TRANSGENIA EN *Drosophila melanogaster*

Portela A, Badal M, Cabré O, Xamena N.

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

El desarrollo de nuestra investigación hace indispensable disponer de una técnica rápida, sencilla y eficaz de transgenia en *Drosophila melanogaster*. Estudios anteriores demuestran que es posible conseguir individuos transgénicos por microinyección o por biobalística, pero ambas técnicas son caras, complejas y de baja eficiencia. Así pues, para obtener individuos transgénicos con expresión permanente, hemos decidido desarrollar la técnica de electroporación en *D. melanogaster*.

Con la intención de poner a punto la técnica, estamos trabajando con plásmidos (pWP2 y pCaSpeR-AUG-βGal) capaces de revertir el fenotipo *white*, de la cepa electroporada. Ambos plásmidos tienen el transgen entre dos extremos del elemento transponible P, de modo que gracias a la transposasa codificada en el plásmido *helper* superproductor phs X2-3, pueda integrarse en el genoma. Así pues, la cepa deberá ser de citotipo M, que no sintetiza inhibidor de la transposasa y además, al no tener elementos P, evita el efecto de una transposición masiva, que resultaría en un fenotipo parecido al de la disgénesis híbrida.

El estudio de la incorporación del transgen del plásmido pWP2 se ha hecho por PCR, amplificando una región de 700 bp, no presente en la cepa electroporada. En el caso del plásmido pCaSpeR-AUG-βGal, se ha hecho un seguimiento mediante la detección de expresión de la β-galactosidasa, a través de un ensayo con CPRG. En ambos casos se han obtenido resultados positivos, tanto en los individuos parentales como en sus descendientes.

**NOTAS:**

## INDUCCIÓN DE INESTABILIDAD GENÓMICA EN LA LÍNEA GERMINAL DE UN MUTANTE DE *Drosophila* DEFICIENTE EN LA REPARACIÓN DE APAREAMIENTOS ERRÓNEOS (*spell*)

López A, Xamena N, Marcos R, Velázquez A.

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

La deficiencia en la reparación de apareamientos erróneos en el DNA (*mismatch repair*, MMR) se caracteriza por una inestabilidad en secuencias microsatélites (MSI) y por una predisposición al cáncer. Además, existen evidencias de que los agentes mutagénicos pueden inducir MSI. Así, en condiciones deficientes en MMR, tanto la MSI como la inestabilidad genómica general podrían estar moduladas por la exposición a mutágenos.

En este trabajo se ha analizado la inducción de MSI *in vivo* por distintos mutágenos en células germinales, utilizando el mutante *spell* (deficiente en MMR) de *D. melanogaster*. El análisis por PCR de cinco loci microsatélites se llevó a cabo en la descendencia de los machos tratados con los mutágenos: 2-acetilaminofluoreno (2-AAF), bleomicina (BLM), bromuro de etidio (EtBr) y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y el EtBr no mostraron ningún efecto en la MSI, ni en condiciones normales ni en condiciones deficientes de MMR. Sin embargo, sí que se encontró un efecto débil después del tratamiento de los machos deficientes en MMR con BLM y 2-AAF. Los resultados de inducción de MSI con BLM se confirmaron mediante AP-PCR a partir de la descendencia de los machos deficientes en MMR. Los resultados obtenidos por AP-PCR también muestran la implicación de MMR en una inestabilidad genómica global, incrementando el daño genético en la descendencia.

Este estudio, además, pone de manifiesto la importancia que tiene el uso de mutantes deficientes en reparación y/o replicación de *Drosophila* en la identificación de aquellos factores implicados en la inestabilidad genómica heredable.

**NOTAS:**

***Drosophila* COMO MODELO DE ESTUDIO DE LA ANEMIA DE FANCONI: CLONACIÓN Y ANÁLISIS MOLECULAR DE GEN FANCD2**

Castillo V, Cabré O, Marcos R, Surrallés J.

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

La anemia de Fanconi (FA) es un síndrome genético caracterizado por fragilidad cromosómica, malformaciones congénitas y alteraciones hematológicas severas. La ruta Fanconi actúa como supresora de tumores y, por tanto, los pacientes afectados tienen una altísima predisposición al cáncer lo que le confiere una gran relevancia biomédica. Seis de los ocho genes causantes de la FA (genes *FANCA*) han sido clonados (Joenje and Patel, 2001). Ninguno de ellos (*FANCA*, *C*, *E*, *F*, *G*) está conservado evolutivamente excepto el recientemente caracterizado *FANCD2* (Timmers et al., 2001). Con objeto de utilizar *Drosophila melanogaster* como modelo de estudio de la anemia de Fanconi, hemos clonado y secuenciado<sup>1</sup> el cDNA entero del gen *FANCD2* de *Drosophila* (*dFANCD2*) a partir de RNA de moscas adultas Canton S. El gen *dFANCD2* se compone de 14 exones y codifica una proteína de 1478 aminoácidos, similar en longitud y peso molecular a la humana. La proteína *dFANCD2* presenta una alta homología con la humana a lo largo de todos sus exones conservándose incluso el residuo de activación por monoubiquitinación (K561) y su entorno aminoacídico descrito en humanos. También se encuentra altamente conservada en *A. thaliana* y *C. elegans*. El programa de localización celular ProtLoc predice que *dFANCD2* es una proteína de (o asociada a) membrana. El programa de estructura secundaria TransMem predice dos hélices transmembranas en las posiciones 210-223 y 406-423. Finalmente también se detectó homología remota con una proteína del poro de la membrana nuclear. Así pues, a diferencia del resto de proteínas Fanconi descritas hasta la fecha, existen indicios de que *dFANCD2* presenta dominios funcionales conocidos.

Joenje H and Patel KJ (2001) The emerging genetic and molecular basis of Fanconi anaemia. *Nat Rev Genet*, 2, 446-457

Timmers et al. (2001) Positional cloning of a novel Fanconi anemia gene, *FANCD2*. *Mol. Cell*, 7,241-248

<sup>1</sup>Gene bank Accession number: AJ459772

**NOTAS:**

## ANÁLISIS DEL ELEMENTO TRANSPONIBLE *FOLDBACK* DE *Drosophila melanogaster*

Badal M, Portela A, Xamena N, Cabré O.

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

El elemento transponible *foldback* (FB) de *Drosophila melanogaster* ha sido un elemento tradicionalmente difícil de clasificar. La estructura altamente repetitiva de sus largos extremos invertidos (IR) supone un grave impedimento para su estudio y el de las secuencias que puedan encontrarse en su interior, tales como fragmentos genómicos u otros elementos transponibles. FB se encuentra asociado a varios fenotipos mutantes del locus *white* ( $w^c$ ,  $w^{DZL}$ ,  $w^{+UZ}$ ). La principal característica de estas mutaciones es un índice de reversión inusualmente elevado, relacionado con la frecuente escisión de secuencias internas del elemento.

El análisis detallado de las cepas mutantes M63 y M115, aparecidas en nuestro laboratorio, demuestra que en ellas se ha producido la inserción de un elemento FB-NOF en la región 3' del gen *white*. En estas cepas, homocigotas para el alelo  $z^1$ , el fenotipo *zeste* no solo aparece en las hembras, como cabe esperar, sino también en los machos.

La comparación fenotípica y molecular de los mutantes  $w^c$ ,  $w^{DZL}$ ,  $w^{+UZ}$ , M63 y M115, así como un análisis bioinformático exhaustivo del elemento FB y sus variantes, especialmente la estructura FB-NOF, nos permite desarrollar nuevas hipótesis sobre la biología de este elemento, su movilización y expresión, así como la forma en la que puede alterar la expresión de genes cercanos independientemente de su posición relativa, ya sea 5', interna o 3'.

**NOTAS:**

## INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES EN LA LÍNEA GERMINAL DE LOS MUTANTES *spell* Y *mus-209* DE *Drosophila*

Baida A, López A, Marcos R, Velázquez A.

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

Las secuencias microsatélites son muy susceptibles a sufrir alteraciones debido al deslizamiento de la DNA polimerasa durante la replicación de dichas secuencias. Así, tanto deficiencias en la reparación de apareamientos erróneos en el DNA (*mismatch repair*, MMR), como algunas deficiencias en el proceso de replicación del DNA se caracterizan por producir inestabilidad de microsatélites (MSI). Además, se ha demostrado que la inestabilidad generada por una deficiencia en el proceso MMR es una de las causas del desarrollo del cáncer; aunque no se conoce si los individuos heterocigotos para estos genes también presentan cierto grado de inestabilidad con posibles consecuencias en una predisposición al cáncer.

En este trabajo estudiamos la MSI en la línea germinal y transmitida a la descendencia, en distintos fondos genéticos de *Drosophila*. Para ello, se han analizado por PCR cinco microsatélites en la descendencia de cruces individuales de moscas de la cepa *spell* (deficiente en MMR), de la cepa *mus-209* (deficiente en PCNA) y de la cepa *Canton-S* (tipo salvaje). Los resultados obtenidos, analizando la descendencia de los individuos heterocigotos, tanto para el mutante *spell* como para el mutante *mus-209*, muestran que la alteración de un solo alelo en estos genes es suficiente para generar MSI en las células germinales, comparado con los individuos normales. Por lo tanto, además de la deficiencia en MMR, alteraciones en las funciones involucradas en la replicación pueden jugar un papel no despreciable en la MSI germinal, con posibles consecuencias en la descendencia.

**NOTAS:**

## **EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD DEL CADMIO Y SU ACTIVIDAD FRENTE AL DICROMATO POTÁSICO Y EL ETILMETANOSULFONATO. ESTUDIO CON SMART EN ALAS DE *Drosophila***

Kossatz E, Rizki M, Xamena N, Creus A, Marcos R.

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

Los metales pesados se encuentran en casi todos los seres vivos, dado que algunos son esenciales para el funcionamiento normal del organismo, mientras que otros se encuentran como contaminantes en el medio ambiente. La exposición del hombre a estos compuestos supone un riesgo potencial para la salud.

Entre los metales pesados, el cadmio es un elemento abundante, presente en el agua y alimentos, y por su presencia en tejidos vegetales y animales ha sido muy estudiado. Algunos estudios demuestran que el cadmio es un compuesto carcinogénico por distintas rutas de exposición; siendo uno de los compuestos clasificado como carcinógeno en humanos por la IARC.

En el presente trabajo el ensayo de mutación y recombinación somáticas en alas de *Drosophila melanogaster* se ha usado para investigar la genotoxicidad del cloruro de cadmio y sus efectos frente la acción de dos compuestos potencialmente genotóxicos: dicromato potásico (PDC) y etilmetanosulfonato (EMS). Este ensayo se basa en que la pérdida de heterocigosidad de los genes recesivos *multiple wing hairs* (mwh) y *flare-3* (flr<sup>3</sup>) puede conducir a la formación de clones de células mutantes en las alas de las moscas adultas. Estos clones pueden ser debidos a sucesos mutacionales y recombinacionales. El experimento ha supuesto realizar tratamientos combinados del cloruro de cadmio (pretratamientos y cotratamientos crónicos) con PDC y EMS. De los resultados obtenidos es evidente que el cloruro de cadmio no incrementa la frecuencia de ninguna de las tres categorías de clones (pequeños, grandes o dobles) a ninguna de las concentraciones evaluadas. Los posibles efectos del cadmio sobre la acción de PDC y EMS están en fase de análisis pero, de los estudios previos se deduce que el ensayo SMART en alas de *Drosophila melanogaster* es un buen ensayo *in vivo*, no sólo para detectar genotoxicidad, sino que permite obtener información valiosa sobre mecanismos de acción.

**NOTAS:**

## **INFLUENCIA DE LA MUTACIÓN *mus308* EN LA MUTAGENICIDAD DE CLORAMBUCIL, MELFALÁN Y BUSULFÁN EN CÉLULAS GERMINALES FEMENINAS DE *Drosophila melanogaster***

Hernando J. Comendador MA, Sierra LM.

Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA, Universidad de Oviedo

Muchos de los agentes antitumorales que se utilizan en el tratamiento del cáncer son potentes agentes genotóxicos, aunque existe poca información sobre la relevancia mutagénica de los distintos tipos de lesiones que pueden inducir, y menos aún sobre cómo los distintos sistemas de reparación del ADN reparan estas lesiones.

En este estudio se ha analizado *in vivo* la mutagenicidad de tres agentes antitumorales de la familia de las nitrógeno-mostazas que se unen covalentemente al ADN, clorambucil (CAB), melfalán (MEL) y busulfán (BUS), utilizando para ello el test de letales recesivos ligados al sexo en células germinales femeninas de *D. melanogaster*. Se han ensayado distintas concentraciones de cada compuesto, en condiciones eficientes y deficientes para el sistema de tolerancia mediada por *bypass* (BMT) representado por el locus *mus308*.

Para los tres compuestos se obtuvieron frecuencias de mutación significativamente mayores que las espontáneas, en ambas condiciones de reparación, y en los tres casos se encontraron índices de mutabilidad significativamente distintos de 1, lo que confirma la participación del sistema BMT, en el procesamiento de las lesiones inducidas por estos agentes que, dada su naturaleza, se espera que sean mayoritariamente enlaces cruzados.

Por otro lado, este trabajo corrobora la utilidad de las células germinales femeninas de *D. melanogaster* en estudios de reparación del ADN en eucariotas superiores *in vivo*.

**NOTAS:**

## **GENOTOXICIDAD DE AGENTES ANTITUMORALES EN EL ENSAYO DEL COMETA *in vivo* EN *Drosophila melanogaster*, EN DISTINTAS CONDICIONES DE REPARACIÓN**

Aguiar S, Arbizu E, Comendador MA, Sierra LM.

Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA, Universidad de Oviedo

Se ha realizado el ensayo del cometa *in vivo* en *D. melanogaster* para estudiar la generación de roturas de ADN por parte de varios agentes antitumorales, con distintos mecanismos de acción: los inhibidores de topoisomerasas etopósido (VP-16) y camptotecina (CAMP), el antimetabolito metotrexato (MTX) y los agentes alquilantes bifuncionales clorambucil (CAB) y melfalán (MEL).

Se han utilizado neuroblastos de larvas del 3<sup>er</sup> estadio, tratadas durante 12 horas; las células se han individualizado por métodos mecánicos y el ensayo del cometa se ha llevado a cabo a pH 12,6 y bajo distintas condiciones de reparación: eficientes (ERC) y deficientes en la reparación por escisión de nucleótido (NER<sup>-</sup>) y en la tolerancia mediada por bypass (BMT<sup>-</sup>).

Los resultados obtenidos muestran que en condiciones ERC los agentes estudiados son capaces de inducir roturas de ADN, aunque en el caso de MTX parecen ser debidas a la acción del sistema NER y en el de VP-16 también a la de BMT. Los resultados de CAB y MEL revelan además la inducción de enlaces cruzados (en análisis con y sin cotratamiento con metilmetanosulfonato, MMS). En cuanto a la acción de los dos sistemas de reparación analizados, se encuentra que intervienen en la reparación y/o procesamiento de los daños inducidos por todos estos compuestos, con la excepción del sistema BMT que no parece actuar sobre los daños inducidos por MTX.

Estos resultados demuestran la potencialidad del ensayo del cometa *in vivo* en *D. melanogaster*, como herramienta útil en el estudio de los mecanismos de acción de agentes antitumorales.

**NOTAS:**

**EFFECTO PROTECTOR DE *Cymbopogon citratus* Stapf. SOBRE LA GENOTOXICIDAD DE MUTÁGENOS MODELO EN EL ENSAYO SMAR w/w<sup>+</sup> DE *Drosophila melanogaster***

Cápiro N<sup>1,2</sup>, Sierra LM<sup>2</sup>, Comendador MA.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Biología. Universidad de la Habana, Ciudad Habana, Cuba, <sup>2</sup>Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA, Universidad de Oviedo

Se ha estudiado la capacidad antigenotóxica de la decocción de las hojas de la planta *C. citratus* también llamada Caña Santa (CS), muy usada en Cuba en la medicina tradicional y también como bebida, mediante el ensayo SMAR de ojos w/w<sup>+</sup> de *D. melanogaster*. Diferentes concentraciones del extracto vegetal fueron administradas en cotratamientos crónicos desde huevo al menos con dos concentraciones de mutágenos modelo con diferentes mecanismos de acción: los agentes alquilantes monofuncionales metilmetanosulfonato (MMS) y etilnitrosourea (ENU), el polifuncional hexametilfosforamida (HMPA), el hidrocarburo policíclico aromático 7-12-dimetilbenz(a)antraceno (DMBA), y el inductor de estrés oxidativo juglona (JG).

Los resultados obtenidos demuestran que CS reduce en todos los casos la genotoxicidad de estos agentes, llegando incluso a anularla. Además, se observa que, en respuesta a las distintas concentraciones de CS, existen dos grupos de agentes: aquellos con los que se detecta un efecto de las concentraciones, y aquellos en los que no se detecta este efecto. Por otra parte, en algunos casos se observa que la respuesta antigenotóxica de CS depende de la concentración del mutágeno.

Estos resultados demuestran que la decocción de las hojas de Caña Santa posee un amplio espectro de acción antigenotóxica y amplían el conocimiento necesario para lograr una aproximación mecanística de su capacidad de protección al DNA.

**NOTAS:**

## INFLUENCIA DEL ARSÉNICO EN LA GENOTOXICIDAD DEL DICROMATO POTÁSICO Y DEL ETILMETANOSULFONATO. ESTUDIO CON EL TEST SMART EN ALAS DE *Drosophila*

Rizki M, Kossatz E, Creus A, Xamena N, Marcos R.

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

El ensayo de mutación y recombinación somáticas (*Somatic Mutation And Recombination Test, SMART*) en alas de *Drosophila melanogaster* se ha utilizado para evaluar la actividad genotóxica del arsenito sódico (SA). Este ensayo está basado en el principio de que la pérdida de heterocigosidad de los genes marcadores *multiple wing hairs (mwh)* y *flare-3 (flr<sup>3</sup>)*, en células de los discos imaginales de las larvas, puede conducir a la formación de clones de células mutantes, los cuales se expresan como manchas en las alas de las moscas adultas. Estos clones pueden ser debidos a diferentes alteraciones genéticas (mutación puntual, delección, recombinación mitótica y no disyunción).

Los resultados obtenidos indican que el SA no incrementa la frecuencia de ninguno de los tres tipos de clones mutantes (pequeños, grandes y dobles), por lo que se concluye que este compuesto no produce efectos genotóxicos detectables mediante este ensayo. En vista de estos resultados, se ha investigado también la actividad moduladora del arsenito sódico (SA) frente a la genotoxicidad inducida por el dicromato potásico (PDC) y el etilmetanosulfonato (EMS); para ello se ha utilizado un pretratamiento y un cotratamiento crónico con el fin de comparar los efectos. Los resultados muestran que el SA en combinación con el PDC, en ambos pre- y cotratamiento, suprime la genotoxicidad inducida por el PDC. Sin embargo, no se ha observado ningún efecto con respecto al pre- y cotratamiento del arsénico con EMS; concluyéndose que el SA no modifica las frecuencias de clones mutantes inducidos por EMS.

Estos resultados indican que el SA actúa como antígenotóxico, posiblemente como antioxidante, dado el mecanismo de acción genotóxica que se atribuye al PDC.

**NOTAS:**

## VARIABILIDAD INTERINDIVIDUAL EN LA RESPUESTA FARMACOLÓGICA DE METADONA: PAPEL DE LAS PROTEÍNAS DE TRANSPORTE

Calvo R, Suárez E, Ortega I, Soengas I, Rodríguez M.

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad del País Vasco

La metadona es un opiáceo sintético que se ha venido usando durante años para suprimir los síntomas de abstinencia en los individuos con dependencia a opiáceos y en el tratamiento del dolor crónico debido a su actividad analgésica, semejante a la morfina, y a su efecto prolongado. Sin embargo, se ha observado que tras la administración oral de metadona a pacientes, existe una gran variabilidad tanto inter como intraindividual en la farmacocinética (relación dosis-concentración plasmática) y farmacodinamia (relación concentración-efecto) de la misma dificultando así la predicción de los regímenes de dosificación. Se han identificado algunas de las fuentes de esta variabilidad destacando entre ellas la fijación a proteínas plasmáticas, los procesos de absorción y/o el metabolismo.

La alpha-1-glicoproteína ácida es una proteína plasmática a la que se unen numerosos fármacos y especialmente aquellos de carácter básico, como la metadona. Se ha comprobado que esta proteína se encuentra aumentada en el síndrome de abstinencia a opiáceos y también en los pacientes con cáncer. Dado que solo la fracción no unida a las proteínas es capaz de interactuar con los receptores y dar lugar a un efecto terapéutico, cambios a nivel de la fijación de metadona a estas proteínas podrían repercutir en su respuesta farmacológica. En ambas situaciones, en el animal de experimentación se ha demostrado un cambio en la farmacocinética y en el efecto analgésico de la metadona.

Por otro lado, la P-glicoproteína (P-gp) es una proteína de transporte que se expresa en una gran variedad de tipos celulares, incluyendo las células endoteliales de la barrera hematoencefálica y del epitelio intestinal. La P-gp puede actuar previniendo la absorción intestinal de algunos fármacos así como restringiendo el acceso de los mismos a ciertos tejidos (por ejemplo el sistema nervioso central).

Diversos modelos *in vitro* han demostrado que la metadona es un sustrato de P-gp con gran afinidad en las células intestinales y que la principal ruta de metabolización de la metadona tiene lugar en los microsomas hepáticos implicando al citocromo P450 isoenzima 3A4 (CYP3A4). Este enzima, además de en el hígado, se expresa en el epitelio del intestino delgado humano lugar de metabolismo de primer paso de muchos fármacos administrados oralmente (incluidos los opiáceos) y responsable de su menor biodisponibilidad oral. Estudios recientes sugieren que muchos sustratos de la P-gp son también sustratos de CYP3A4 y que existe una cooperación en la estimulación e inhibición para ambos procesos. Por lo tanto, una de las fuentes de variabilidad

observada en los pacientes que reciben metadona podría deberse a la existencia de una metabolización local a nivel intestinal y de la P-gp.

En el presente estudio se ha analizado *in vivo*, en el animal de experimentación, la influencia del metabolismo y de la P-gp en la farmacocinética (medida de niveles plasmáticos de metadona por HPLC) y farmacodinamia (medida del efecto analgésico) de la metadona administrada por vía oral. Para ello se han utilizado inhibidores específicos y estimulantes (Valspodar y St. John's Wort) con el fin de determinar las fuentes de variabilidad. Se ha constatado *in vivo* que la metadona es sustrato de la P-gp y que ésta modula de manera importante el comportamiento de la metadona en el organismo.

---

**NOTAS:**

## **PATRONES CUANTITATIVOS DE EXPRESIÓN DE GENES DE LOS SISTEMAS DEPENDIENTES DE TIORREDOXINA O GLUTATIÓN EN RATÓN**

Jurado J, Madrid J, Cabrera JM, Prieto MJ, Pueyo C.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba

Las células presentan patrones de expresión génica característicos que modifican en situaciones de estrés con el fin de recuperar cuanto antes las condiciones de normalidad. Además, numerosos procesos patofisiológicos implican variaciones de estos patrones de expresión, de ahí el interés de estos estudios. Las técnicas de análisis masivo como las microseries de ADN tienen un valor indiscutible al generar patrones de expresión de dimensión genómica, sin embargo, no aportan datos cuantitativos precisos ni datos cuantitativos absolutos. El presente trabajo aborda la cuantificación de la expresión de genes de los sistemas tiorredoxina (Trx) y glutatión (GSH) mediante el uso combinado de dos técnicas de gran sensibilidad, al estar basadas en la amplificación por PCR: (i) PCR múltiple (Pueyo et al *Methods Enzymol*, 2002, 347:441) y (ii) PCR en tiempo real.

Los sistemas Trx y GSH son responsables de la regulación de la homeostasis redox en mamíferos. El sistema Trx se compone de Trx, Trx reductasa (TR) y Trx peroxidasa y el sistema GSH de GSH, GSSG reductasa (GR), glutarredoxina (Grx) y GSH peroxidasa. Recientemente se ha descubierto una proteína (TGR) que reduce componentes de ambos sistemas. Se han identificado formas citosólica y formas mitocondriales de algunas de las proteínas y además, se han descrito variantes derivadas de una maduración alternativa de los transcritos primarios de algunos de los genes.

En ratones BALB/c se están cuantificando los niveles de expresión basales y en respuesta a estrés oxidativo inducido por paraquat (30 mg/kg) de algunos componentes de los sistemas referidos: TRX1, TRX2, TR1, TR2, GRX1, GRX2, GR, TGR y TR1-alt (que codifica una proteína (10kDa mayor que TR1). El análisis afecta a diversos órganos: cerebro, corazón, hígado, pulmones, bazo, testículos y riñones. Los animales se sacrifican por dislocación cervical y los órganos extraídos se congelan inmediatamente en nitrógeno líquido hasta su procesamiento. Entre los resultados obtenidos hay que destacar que los riñones presentan niveles elevados de expresión basal de todos los genes estudiados, en particular de GRX1 ( $3 \times 10^5$  moléculas/ng de ARN total). Por el contrario, los testículos muestran el nivel máximo de expresión de la forma mitocondrial GRX2 ( $5 \times 10^5$  moléc/ng) y de TGR ( $7.6 \times 10^5$  moléc/ng). También en testículos TR1-alt tiene su mayor nivel de expresión (239 moléc/ng) aunque hay que resaltar que, incluso en testículos, el número de transcritos de TR1-alt sólo supone el 1.4% de TR1. (Financiación PB98-1627)

**NOTAS:**

## ANÁLISIS COMPARATIVO DEL EFECTO DEL BUTIRATO DE SODIO SOBRE EL CICLO CELULAR

Muñoz S<sup>1</sup>, Álvarez A<sup>2</sup>, García-Orad A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Animal y Genética, <sup>2</sup>Departamento de Biología Celular, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco

El Butirato de Sodio (BS) es un inhibidor no específico de la proliferación celular y un inductor de la diferenciación y apoptosis, (Kruh, 1982). Debido a estas características el BS ha sido considerado como posible agente terapéutico en tumores sólidos (Conley, 1998; Wu, 2001) y leucemias (Kasukabe, 1997).

En términos moleculares, los efectos fisiológicos y terapéuticos del BS se deben a una inhibición de la desacetilación de las proteínas histónicas y no histónicas de la cromatina, la hiperacetilación altera de manera específica la expresión de algunos genes (Kadonaga, 1998).

Los efectos del BS son muy variados, según aparece en la bibliografía:

-Induce diferenciación, apoptosis, y parada del ciclo celular en G1 y G2-M en células de carcinoma tiroideo anaplásico (Greenberg, 2001).

-Para el ciclo en la fase G1, reduce el crecimiento e induce muerte apoptótica en carcinoma renal.(Hara, 2000).

-Detiene el ciclo en G1, incrementa la apoptosis, induce diferenciación e inhibe el crecimiento en células de cáncer de próstata (Maier, 2000).

-Detiene el crecimiento en G2-M, induce diferenciación y apoptosis en linfoblastos de leucemia humana. (Bernhard, 1999).

-Produce parada del ciclo en G1-G2 y poliploidías después de eliminar el SB del medio en células de cáncer de mama (Lallemand, 1999).

En nuestro trabajo hemos realizado un análisis del efecto del BS en el ciclo celular, la inducción de apoptosis y la aparición de poliploidías, mediante Citometría de Flujo, en diferentes líneas celulares. Para ello hemos realizado tratamientos con BS a concentraciones entre  $10^{-2}$ - $10^{-7}$  M durante diferentes tiempos. Utilizamos células de ovario de hamster chino (CHO), cáncer de mama humano (MDA), leucemia promielocítica aguda humana (HL60), melanoma de ratón (B16), tejido conectivo de ratón (L929) y linfocitos B humanos transformados (XL50).

Hemos obtenido diferentes tipos de actuación del BS que luego serán utilizados para analizar los genes que las propias líneas presentan alterados y que inducen a un diferente mecanismo de acción del BS lo que permitirá determinar en qué casos este fármaco puede ser eficaz.

**NOTAS:**

EXAMINACION DE LA  
MICROECONOMIA

Examen de la Microeconomía

Examen de la Microeconomía

El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta. El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta. El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta.

El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta. El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta.

El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta. El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta.

El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta. El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta.

El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta. El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta.

El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta. El examen de la microeconomía se divide en dos partes. La primera parte es de opción múltiple y la segunda parte es de respuesta corta.

EXAMEN DE LA MICROECONOMIA

**NOTAS:**

EXAMINATION OF THE ...  
MATERIALS ...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

**NOTAS:**

## LA ACTIVACIÓN MUTAGÉNICA DE ARILAMINAS POR FRACCIONES SUBCELULARES DE *Chamaelea gallina* COMO BIOMARCADOR DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

Rodríguez MJ<sup>1</sup>, Rodríguez A<sup>1</sup>, Amezcua O<sup>2</sup>, López J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba, <sup>2</sup>CICEM “El Toruño”, Junta de Andalucía, Puerto de Santa María, Cádiz

Diversos parámetros bioquímicos han sido medidos en el molusco bivalvo *Chamaelea gallina* como biomarcadores de contaminación en ambientes marinos. En este estudio, se ha evaluado la activación de 2-aminoantraceno (2-AA) y 2-acetilaminofluoreno (AAF) a genotoxinas en el test de Ames de *Salmonella typhimurium*, usando S9, citosol y microsomas de animales expuestos a cuatro contaminantes modelo: Aroclor 1254, Cu(II), tributilestaño (TBT) y As(III). El Aroclor 1254 no alteró la activación de arilaminas, mientras que los otros tres compuestos causaron una drástica disminución de la capacidad activadora.

Aunque en vertebrados participa claramente el CYP1A, se desconocen las enzimas que activan las arilaminas en bivalvos, por lo que se procedió a caracterizarlas. La conversión de 2-AA y AAF en genotoxinas fue mayor en el citosol que en la fracción microsomal, y mayor con NADH que con NADPH como fuente de poder reductor. La activación de 2-AA fue potenciada por alfa-naftoflavona e inhibida por metimazol, mientras que la biotransformación de AAF fue inhibida por ambos compuestos, lo que indica distintas rutas para la activación de cada arilamina. A diferencia de la activación de arilaminas, la actividad benzo(a)pireno hidroxilasa (BPH), ligada a CYP1A, aumentó dos veces en animales expuestos a Aroclor 1254 y Cu(II), mientras que no varió en aquellos expuestos a TBT o As(III). Estos resultados indican que la activación de arilaminas en moluscos está catalizada preferentemente por enzimas citosólicas aún desconocidas, y no por monooxigenasas microsomales.

Se ensayó la activación de arilaminas en animales muestreados en diferentes zonas del litoral andaluz. Los provenientes de sitios más contaminados por Cu mostraron menor capacidad de activación de 2-AA y mayor actividad BPH. Estos resultados concuerdan con la exposición modelo a Cu(II), aunque no se pueden excluir los efectos de otros contaminantes.

**NOTAS:**

## NIVELES DE 8-oxodG EN ADN CROMOSÓMICO DE *Scrobicularia plana* COMO BIOMARCADOR DE ESTRÉS OXIDATIVO Y CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

Romero A<sup>1</sup>, Amezcua O<sup>2</sup>, Muñoz JL<sup>2</sup>, López J<sup>1</sup>, Alhama J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba, <sup>2</sup>CICEM “El Toruño”, Junta de Andalucía, Puerto de Santa María, Cádiz

Hasta 100 lesiones oxidativas distintas se han identificado en la molécula de ADN, siendo las que afectan a las bases nitrogenadas las que han recibido mayor atención. Entre ellas destacan las bases púricas con un grupo ceto en posición 8, las bases pirimidínicas hidroxiladas y las bases púricas con el anillo de pirimidina abierto. La 8-oxodG se considera una de las principales lesiones mutagénicas, pues la 8-oxoG en configuración *syn* puede formar dos puentes de H con la otra base púrica, la adenina, dando lugar a transversiones G:C>T:A. Se ha estudiado el daño oxidativo en ADN de coquinas de fango (*Scrobicularia plana*) expuestas a diferentes metales o transplantadas al Estuario del Guadalquivir tras el desastre de Abril de 1998, donde la rotura de la balsa de las minas de Aznalcóllar liberó 5 Hm<sup>3</sup> de lodo y agua ácida con alta concentración de metales. El contenido de 8-oxodG en DNA cromosómico de coquinas de fango se ha medido por HPLC con detección electroquímica. La exposición a arsénico y cobre durante 14 días provocó una subida significativa en los niveles de 8-oxodG, siendo sobre todo en el caso del arsénico. En los animales transplantados al Estuario del Guadalquivir, los niveles fueron significativamente más bajos que los medidos en coquinas de fango expuestas en un lugar control. Esto podría deberse a que el trasplante se realizó tres años después del vertido y como demuestran otros biomarcadores (actividades enzimáticas, peroxidación lipídica, estado redox del glutatión, etc), la zona parece estar quedando bastante limpia. Por otro lado los elevados niveles de 8-oxoDG encontrados en la zona control podrían deberse a un vertido de petróleo producido poco tiempo antes del experimento. Podemos concluir que la determinación de 8-oxodG en DNA cromosómico por HPLC-EC es un biomarcador potencial de contaminación medioambiental, con una sensibilidad mayor que muchos biomarcadores de estrés oxidativo descritos hasta la fecha.

**NOTAS:**

## **EVALUACIÓN MUTAGÉNICA CON EL ENSAYO DE *Salmonella/microsoma* DE MUESTRAS MEDIOAMBIENTALES: EFLUENTES DE DEPURADORAS Y LIXIVIADOS DE SUELOS TRATADOS CON PURINES**

de la Peña E<sup>1</sup>, Muñoz MJ<sup>2</sup>, Carballo M<sup>2</sup>, de la Torre A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CSIC, Centro de Ciencias Medioambientales, Laboratorio de Genotoxicología y Mutagénesis Ambiental, Madrid, <sup>2</sup>Centro de Investigación de Sanidad Animal, Sanidad Ambiental, Valdeolmos, Madrid

Se valora el efecto mutagénico de efluentes de depuradoras de la Comunidad de Madrid (San Agustín de Guadalix D2 y D7, El Chaparral D3, Alcalá Urbana D4, Fuente del Saz D5, Velilla D8, y La Poveda D9); y de aguas de lixiviados, de parcelas tratadas con diferentes concentraciones de purines de cerdo. Se utiliza el ensayo bacteriano de *Salmonella typhimurium*, utilizando las cepas deficientes para la histidina (*his*) TA98 y TA100, capaces de detectar mutaciones de desplazamiento de pauta de lectura y de sustitución de pares de bases respectivamente; se realiza la valoración con y sin activación metabólica, utilizando el sobrenadante postmitocondrial (S9) de hígado de ratas tratadas con fenobarbital y 5,6-benzoflavona.

Las muestras de efluentes se obtienen tras 24 horas de muestreo, recogiendo cada dos horas un litro de agua, de la mezcla total del día se toma una alícuota de 1 L de agua que se concentra, mediante un cartucho de Sp-pack de 5 y 2 g. Los cartuchos se guardan a - 20 °C para su posterior análisis. Las muestras a ensayar son extractos metanólicos obtenidos a partir de los cartuchos y se utilizan como control muestras de agua bidestilada. Las muestras de agua de lixiviado se obtienen a 50 cm de profundidad, mediante el sistema de cañas de succión, instaladas en las parcelas de cultivo de la finca experimental La Poveda del CSIC. A las parcelas se les aplicó un tratamiento de purín, a las concentraciones de 60, 180 y 300 m<sup>2</sup>/Ha; y como control utilizamos el lixiviado de una parcela con las condiciones estándar del cultivo.

Se evalúan, las muestras de efluentes a las diluciones 50% y 25%, y el control. Los resultados con los diferentes efluentes, con y sin activación metabólica (S9), no muestran un incremento significativo del número de revertantes; y las muestras de lixiviados, previa filtración con Millipore (0.22 µm), directamente obtenidos 100% y a las diluciones 75% y 50%, y un control. Los resultados con los diferentes lixiviados, con y sin activación metabólica (S9), no muestran un incremento significativo del número de revertantes.

Se concluye, que a la vista de los resultados obtenidos, los efluentes evaluados y los lixiviados no presentan actividad mutagénica, en las cepas TA98 y TA100, en presencia y ausencia de activación metabólica. Ensayos que se integran en el programa de desarrollo de métodos alternativos a la experimentación animal.

**NOTAS:**

## **FORMACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MUTAGÉNICA Y CITOTÓXICA DEL NITROSOFENOL Y DERIVADOS METILADOS**

Cuéllar J, Matesanz R, Ruano E, Jiménez L, Martín A, González S, Lacadena J.

Facultad de CC. Biológicas, Universidad S.E.K., Segovia

Según estudios epidemiológicos la principal causa del cáncer humano es la dieta. Entre el gran número de compuestos químicos carcinógenos relacionados con el tipo de alimentación se encuentran los nitrosocompuestos. La importancia de estos compuestos radica en que su formación puede ocurrir directamente en los propios alimentos o de forma endógena en el organismo a partir de sus precursores.

Se ha estudiado el mecanismo de formación del nitrosofenol y sus derivados metilados, *orto*-metilnitrosofenol y *para*-metilnitrosofenol, a partir de nitrito sódico y los correspondientes fenoles. Así mismo, se pone de manifiesto que las condiciones de acidez óptimas para la formación de estos compuestos son similares a las que aparecen en el tracto digestivo. Dentro de la gran variedad de compuestos sintéticos o naturales que se pueden utilizar para tratar de inhibir la formación *in vitro* de nitrosocompuestos, se ha utilizado el ácido ascórbico, demostrando su eficacia.

Se ha demostrado que, tanto el nitrosofenol como sus derivados metilados afectan al desarrollo del crecimiento bacteriano. Dichos compuestos son genotóxicos como así lo demuestran los resultados obtenidos en el SOS Chromotest y el SOS Spot test. En este sentido podemos concluir que el nitrosofenol es el más mutagénico de los compuestos estudiados, ya que se favorecen daños oxidativos en el ADN generados por el grupo nitroso, mientras que, por sus derivados metilados se favorecen las metilaciones debido a impedimentos estéricos. Por último, la presencia del ácido ascórbico en los ensayos de mutagenicidad provoca una disminución en el efecto genotóxico del grupo nitroso, produciendo un menor daño oxidativo y, consecuentemente, obteniendo una menor inducción de la respuesta SOS.

**NOTAS:**

## **EFFECTO DEL RESVERATROL SOBRE LA CAPACIDAD MUTAGÉNICA DEL CAPTÁN**

García O, Barea M, Pollastrini MT, Pérez ML, Escaso M, Sanz F.

Servicio de Toxicología, Centro Nacional de Alimentación, Instituto de Salud Carlos III, Madrid

El Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene), un producto natural derivado de la vid, ha demostrado tener efectos anticancerígenos en diversos ensayos *in vitro* realizados con cultivos celulares de tumores de diferente etiología tanto en líneas celulares humanas como animales. Para determinar si este efecto anticancerígeno del Resveratrol se puede confirmar en ensayos con bacterias se ha realizado en este laboratorio un estudio con el "Ensayo de Mutación Inversa en bacterias", que detectó que este compuesto tenía un efecto antimutagénico ante un mutágeno conocido como es la Azida Sódica. Es objetivo del actual trabajo confirmar si el carácter antimutagénico del resveratrol, es extensible frente a otras sustancias evaluadas por otros autores como mutágenos en este mismo ensayo. Entre ellos se ha seleccionado el Captán, un fitosanitario. Este ensayo se ha llevado a cabo según la Directiva Oficial de las Comunidades Europeas L 136/57 anexo 4 D Cap. B 13/14 (2000) y ha seguido el Sistema de Calidad del Instituto de Salud Carlos III. Se han seleccionado las cepas TA 1535 y TA 100 de *Salmonella typhimurium*. Previamente se determinó el efecto mutagénico y tóxico del Captán sobre estas cepas. Este estudio se ha realizado con diversas dosis de Captán y Resveratrol. El efecto antimutagénico se ha valorado comprobando si existe una disminución significativa del número de colonias inducidas por la mezcla mutágeno-antimutágeno (Captán-Resveratrol) en relación con las inducidas por la sustancia mutagénica (Captán).

Proyecto Intramural del Instituto de Salud Carlos III

**NOTAS:**

## CUANTIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN *IN VIVO* DE GENES DE LOS SISTEMAS TIORREDOXINA Y GLUTATIÓN EN *S. cerevisiae*

Monje F, Michán C, Pueyo C.

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

Los sistemas de reducción dependientes de tiorredoxina (Trx) y glutatión (GSH) son piezas clave para el mantenimiento de la homeostasis redox, y están implicados en la defensa de las células frente a estrés oxidativo. El estrés oxidativo tiene lugar cuando las células se exponen a niveles elevados de especies reactivas de oxígeno (EROs), lo que puede ocasionar daños en el ADN y mutaciones, así como peroxidación lipídica y daños en proteínas. Con el fin de cuantificar los niveles de expresión *in vivo* de genes de los sistemas Trx y GSH, hemos empleado una metodología basada en retrotranscripción y PCR múltiple (RT-mPCR), que nos ha permitido analizar de forma simultánea 16 genes pertenecientes a estos sistemas. Se seleccionaron los genes que codifican las tiorredoxinas (*TRX1*, *TRX2* y *TRX3*), tiorredoxina reductasas (*TRR1* y *TRR2*), tiol peroxidadas (*cTPxI*, *cTPxII*, *cTPxIII*, *mTPx* y *nTPx*), glutatión peroxidadas (*GPX1*, *GPX2* y *GPX3*), glutatión reductasa (*GLR1*) y genes de la biosíntesis del glutatión (*GSH1* y *GSH2*), así como dos genes control (*ACT1* y *PDA1*). Estos genes se subdividieron en dos grupos, y se analizó el perfil de la respuesta transcripcional de los mismos frente a distintos tiempos de exposición a peróxido de hidrógeno y diversas concentraciones de este agente oxidante. Además, se ha cuantificado el efecto que la deficiencia en distintos componentes de los sistemas Trx y GSH tiene sobre los niveles de expresión del resto de genes de ambos sistemas. Por otra parte, y haciendo uso de la técnica de PCR en tiempo real, hemos cuantificado el número de moléculas de transcrito de estos genes en las diferentes condiciones estudiadas. Los resultados obtenidos aportan nuevos datos sobre las compensaciones entre ambos sistemas de reducción, que nos llevan a un mejor entendimiento de la respuesta de *Saccharomyces cerevisiae* frente al estrés oxidativo.

FINANCIACIÓN: PB98-1627

**NOTAS:**

**REGULACIÓN DE LA REPARACIÓN DEL ADN EN *Saccharomyces cerevisiae***Michán C, Monje F, Pueyo C.

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

Este trabajo plantea la cuantificación a nivel transcripcional de la respuesta ante diversos estímulos externos de los genes que codifican proteínas implicadas en la reparación del ADN en la levadura *S. cerevisiae*. Los genes seleccionados participan principalmente en la reparación por excisión de bases (BER) y en la corrección de apareamientos incorrectos (MMR), y codifican: endonucleasas de sitios apurínicos (*APN1* y *APN2*), glicosilasas/AP-liasas (*NTG1*, *NTG2* y *OGG1*), homólogos de la proteína MutS de *E. coli* (*MSH2* y *MSH6*) y polimerasas capaces de replicar ADN dañado (*REV3* y *RAD30*). La metodología empleada se basa en el uso de PCR múltiple cuantitativa y PCR en tiempo real para determinar tanto los niveles absolutos de transcritos como sus posibles variaciones relativas en diferentes condiciones ambientales. El método consiste en (1) aislamiento de ARN y eliminación de toda contaminación de ADN genómico mediante tratamiento con ADNasa, (2) retrotranscripción (RT), y (3) amplificación de los genes en estudio mediante PCR múltiple (MPCR) o mediante PCR en tiempo real.

La transcripción de estos genes se ha cuantificado en una estirpe silvestre de *S. cerevisiae* tras tratamientos con agentes que dañan el ADN como el metilmetanosulfonato o la luz ultravioleta, a distintos tiempos de exposición y diferentes dosis. Además, se han cuantificado los cambios que experimentan sus niveles basales durante la curva de crecimiento de la levadura.

FINANCIACIÓN: PB98-1627

**NOTAS:**

## DOS POLIMERASAS DE SÍNTESIS TRANSLESIÓN EN *Arabidopsis thaliana*

Alejandro E, Roldán T, Ariza RR, Santiago MJ, Huertas MD, Ruiz M.

Dpto. de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba

Para mantener la integridad del material genético, las células disponen de varios mecanismos tales como reparación mediante escisión de bases o nucleótidos. Sin embargo, algunas lesiones en el ADN permanecen durante la replicación, la cual puede bloquearse y conducir a la muerte celular. Como respuesta, las células han desarrollado un sistema de tolerancia del daño denominado síntesis translesión (TLS) que permite la replicación del ADN dañado y contribuye tanto a la supervivencia celular como a la mutagénesis. En los últimos años han sido descubiertas polimerasas de síntesis translesión en *E. coli*, levadura y humanos; estas enzimas están relacionadas estructuralmente entre sí y constituyen una superfamilia, pero permanecen desconocidas en plantas.

En la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, nuestro grupo ha identificado dos tipos de ADNc que codifican proteínas con secuencias similares a polimerasas de síntesis translesión de diversos organismos. El primer ADNc codifica una proteína que presenta una alta identidad de secuencia con polimerasas Pol de diversos organismos, sobre todo con la humana. La proteína Pol humana es capaz de sobrepasar los dímeros de pirimidina tipo ciclobutano inducidos por la luz UV; su homóloga vegetal (AtPol) tiene 672 aminoácidos, ha sido purificada y se está procediendo a ensayar su actividad *in vitro*. En estudios *in vivo* de sobreexpresión en bacterias, AtPol protege de los efectos citotóxicos y mutagénicos de la luz UV. El segundo tipo de ADNc codifica una proteína (AtRev1) con alta homología con Rev1 de *C. elegans*, *S. cerevisiae*, *S. pombe* y *H. sapiens*. Rev1 pertenece a la familia de proteínas *umuC* y es una transferasa que inserta específicamente dCMP frente a sitiosapurínicos/apirimidínicos en un molde de ADN. Rev1 por tanto puede jugar un papel esencial en un proceso mutagénico de TLS. Hemos encontrado que en la expresión de AtRev1 de *A. thaliana* hay eliminación alternativa de intrones, existiendo al menos cuatro ADNc diferentes. Se están llevando a cabo construcciones para sobreexpresar o silenciar estas polimerasas en *A. thaliana* y estudiar su efecto fenotípico.

**NOTAS:**

## IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA FAMILIA DE ENZIMAS REPARADORAS DE ADN ESPECÍFICAS DE PLANTAS

Morales T, Ariza RR, Roldán T.

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba

Todos los seres vivos se enfrentan a la tarea de mantener la integridad de su genoma, continuamente amenazada por cambios químicos espontáneos y por agentes genotóxicos de origen medioambiental. Aunque nuestro conocimiento sobre los mecanismos de reparación de ADN han avanzado considerablemente en microorganismos y en mamíferos, todavía es relativamente superficial en el reino vegetal. La secuencia completa del genoma de la planta modelo *Arabidopsis thaliana* constituye una poderosa herramienta para identificar qué mecanismos de reparación comparten las plantas con otros organismos y cuáles son específicos de las especies vegetales. Empleando técnicas de análisis genómico en *Arabidopsis*, nuestro grupo ha aislado dos clones de ADNc que codifican proteínas que definen una nueva familia de enzimas reparadoras de ADN. Estas proteínas constan 1987 y 1365 amino ácidos y en su extremo C-terminal muestran un dominio (240 aa) que muestra una alta similitud de secuencia con ADN glicosilasas pertenecientes a la superfamilia HhH-GPD. Además de la región hélice-hoquilla-hélice (HhH) de unión al ADN y del bucle con residuos ricos en glicina (G) y prolina (P), conservan un residuo invariante de ácido (D) y la lisina (K) típica de la familia de ADN glicosilasas/liasas. También presentan una región conservada con cuatro residuos de cisteína (C-X6-C-X2-C-X5-C) que unen un complejo [4Fe-2S]. Ambos genes tienen un alto nivel de expresión en diferentes tejidos de *A. thaliana*, incluyendo hojas, flores, tallos y raíces. Una búsqueda intensiva en las bases de datos ha permitido identificar secuencias parciales de ADNc (Expressed Sequence Tags, ESTs) que codifican proteínas muy similares, pero sólo en especies vegetales y no en arqueobacterias, bacterias, hongos o animales. Esto sugiere que ambas proteínas definen una nueva familia de enzimas reparadoras de ADN específicas de plantas. En la actualidad se están realizando estudios de sobreexpresión de las proteínas recombinantes en bacterias con el fin de determinar la especificidad de sustrato de estas proteínas.

**NOTAS:**

**EL GEN AtPOLK DE *Arabidopsis thaliana* CODIFICA UN HOMÓLOGO VEGETAL DE LA ADN POLIMERASA IV (DinB) DE *Escherichia coli***

García MV, Ariza RR, Roldán T.

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba

El proceso de síntesis translesión permite a las células tolerar en su ADN la presencia de lesiones no reparadas y evitar interrupciones en la replicación del genoma, aunque ello implique en muchos casos la incorporación de nucleótidos erróneos y la generación de mutaciones. Resultados obtenidos en microorganismos y células de mamífero indican que la clave de este fenómeno reside en polimerasas de ADN capaces de replicar bases alteradas con distintos grados de fidelidad. Todas estas enzimas están estructuralmente relacionadas entre sí y constituyen una superfamilia representada por las proteínas UmuC y DinB de *Escherichia coli* y Rev1 y Rad30 de *Saccharomyces cerevisiae*. En claro contraste con los conocimientos adquiridos en otros organismos, los mecanismos de tolerancia a las lesiones en el ADN permanecen virtualmente inexplorados en plantas. Mediante técnicas de análisis genómico y el aislamiento del ADNc correspondiente hemos identificado en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* un gen (AtPOLK) que codifica un probable homólogo vegetal de la proteína DinB. AtPOLK codifica una proteína de 672 aminoácidos y se expresa en un amplio rango de tejidos en la planta, incluyendo hojas, tallo, raíces y flores. El análisis mediante RT-PCR y secuenciación ha permitido detectar al menos 3 ARNm diferentes generados por procesamiento alternativo de un mismo transcrito primario. La expresión de AtPOLK en células de *E. coli* incrementa significativamente su frecuencia espontánea de desfases, lo que indica que, al igual que su homólogo procariótico, puede jugar un papel en la extensión de cebadores incorrectamente apareados en el extremo 5'. En la actualidad estamos procediendo a sobreexpresar y purificar el producto del gen AtPOLK con el fin de caracterizar bioquímicamente su actividad enzimática.

**NOTAS:**

## ÍNDICE DE AUTORES

---

**A**

Aguiar S.....	65
Alejandro E.....	95
Alhama J.....	83
Almeda ML.....	25
Alvarez A.....	75
Amaro T.....	39
Amezcuca O.....	81, 83
Araujo M.....	31
Arbizu E.....	65
Ariza RR.....	95, 97, 99
Arrieta I.....	15, 17

**B**

Bada A.....	79
Badal M.....	51, 57
Baida A.....	59
Barea M.....	89
Bogliolo M.....	33
Burgillo MA.....	43

**C**

Cabré O.....	51, 55, 57
Cabrera JM.....	73
Calvo R.....	71
Callén E.....	33, 35
Campo J.....	41
Cápiro N.....	67
Carballo M.....	85
Castillo V.....	55
Céspedes W.....	47
Comendador MA.....	49, 63, 65, 67
Costa C.....	39
Creus A.....	19, 21, 23, 25, 27, 35, 45, 47, 61, 69
Criado B.....	15, 17, 39
Cuéllar J.....	87
Curbelo A.....	79

## **E**

Edreira A.....	43
Escaso M.....	89
Espinoza F.....	45

## **F**

Fernández L.....	37
Fernández N.....	79
Flores P.....	15, 17

## **G**

Galofré P.....	47
García A.....	77
García JM.....	11
García MV.....	99
García O.....	89
García-Orad A.....	75
Garrido MJ.....	29, 31
González J.....	23
González S.....	87
Guillamet E.....	27
Guzmán L.....	77

## **H**

Hernández A.....	47
Hernando J.....	63
del Hierro M.....	41
Huertas MD.....	95

## **I**

Irurzun E.....	41
----------------	----

## **J**

Jiménez L.....	87
Jurado J.....	73

## **K**

Kirsch-Volders M.....	13
-----------------------	----

---

Kossatz E..... 61, 69

## L

Lacadena J..... 87  
Lopes P..... 39  
López A..... 53, 59  
López J..... 81, 83  
López S..... 43  
Lostao CM..... 15, 17

## M

Madrid J..... 73  
Marcos R..... 19, 21, 23, 25, 27, 33, 35, 37, 45, 47, 53, 55, 59, 61, 69  
Martín A..... 87  
Martínez V..... 21  
Matesanz R..... 87  
Menéndez M..... 49  
Michán C..... 91, 93  
Migliore L..... 9  
Monje F..... 91, 93  
Morales T..... 97  
Morillas MJ..... 27  
Muñoz JL..... 83  
Muñoz MJ..... 85  
Muñoz S..... 75

## O

Ocaña R..... 79  
Ortega B..... 15, 17  
Ortega I..... 71  
Ortiz E..... 15, 17  
Ortiz T..... 43

## P

de la Peña E..... 85  
Peñagarikano O..... 15, 17  
Pereira S..... 39  
Pérez G..... 79  
Pérez ML..... 89

Piñeiro E.....	37
Piñero J.....	43
Pollastrini MT.....	89
Portela A.....	51, 57
Prieto MJ.....	73
Pueyo C.....	73, 91, 93

## **R**

Remigio A.....	77, 79
Rivero Y.....	77, 79
Rizki M.....	61, 69
Rodríguez A.....	81
Rodríguez M.....	71
Rodríguez MJ.....	81
Roldán T.....	95, 97, 99
Romero A.....	83
Ruano E.....	87
Rubio A.....	29, 31
Ruiz M.....	95
Ruiz T.....	77

## **S**

Sánchez CE.....	41
Sánchez R.....	49
Santiago MJ.....	95
Santos L.....	39
Sanz F.....	89
Sierra LM.....	49, 63, 65, 67
Sierra M.....	49
Soengas I.....	71
Sousa LP.....	19
Suárez E.....	71
Suárez S.....	29, 31
Subirós N.....	77
Sueiro RA.....	29, 31
Surrallés J.....	33, 35, 37, 55

## **T**

Télez M.....	15, 17
--------------	--------

de la Torre A..... 85

**U**

Uriol E..... 49

**V**

Velázquez A..... 37, 53, 59

Venegas W..... 21

**X**

Xamena N..... 25, 47, 51, 53, 57, 61, 69



# **DIRECTORIO DE PARTICIPANTES**

## A

### **Aguiar Santa Eugenia, Silvia**

Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA

Universidad de Oviedo

C/ Julián Clavería s/n

33006, Oviedo

Tel: 985 102723

Fax: 985 103534

E-mail: silviaag@correo.uniovi.es

### **Alejandro Durán, Encarna**

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias

Universidad de Córdoba

Campus de Rabanales, Edificio C-5, 1ª planta

14071 Córdoba

Tel: 957 218979

Fax: 957 212072

E-mail: ge1aldue@uco.es

### **Alhama Carmona, José**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Universidad de Córdoba

Campus de Rabanales, Edificio *Severo Ochoa*, 2ª planta

14071 Córdoba

Tel: 957 218082

Fax: 957 218688

E-mail: b72rorua@uco.es

### **Almeda, María Lourdes**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències

Universitat Autònoma de Barcelona

08193 Bellaterra (Barcelona)

Tel: 93 5812597

Fax: 93 5812387

E-mail: mlalmeda@einstein.uab.es

### **Alonso Rojas, Rosa M<sup>a</sup>**

Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias

Universidad del País Vasco

Apartado 644

48080 Bilbao  
Tel: 94 6012686  
Fax: 94 4648500  
E-mail: qapalror@lg.ehu.es

**Arrieta Sáez, M<sup>a</sup> Isabel**

Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias  
Universidad del País Vasco  
Apartado 644  
48080 Bilbao  
Tel: 94 6012605 / 94 6015952  
Fax: 94 4648500  
E-mail: ggparsai@lg.ehu.es

**B**

**Badal Soler, Martí**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5811831  
Fax: 93 5812387  
E-mail: marti.badal@uab.es

**Baida Gil, Aida**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5811831  
Fax: 93 5812387  
E-mail: abaida@einstein.uab.es

**Barrueco Fernández-Cuervo, Carmen**

Departamento de Toxicología Experimental, Genotoxicidad  
Instituto de Salud Carlos III  
Carretera Majadahonda-Pozuelo, Km. 2  
28220 Majadahonda (Madrid)  
Tel: 91 5097900  
Fax: 91 5097926  
E-mail: cbarrue@isciii.es

**Bogliolo, Massimo**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812597  
Fax: 93 5812387  
E-mail: mbogliolo@einstein.uab.es

**C**

**Cabré Fabré, Oriol**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5811662  
Fax: 93 5812387  
E-mail: Oriol.Cabre@uab.es

**Callén Moréu, Elsa**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812597  
FaxX: 93 5812387  
E-mail: ecallen@einstein.uab.es

**Calvo Dúo, Rosario**

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina y Odontología  
Universidad del País Vasco  
Apartado 644  
48080 Bilbao  
Tel: 94 6012761  
Fax: 94 4800128  
E-mail: kfpcadur@lg.ehu.es

**Cápiro Trujillo, Nancy**

Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de la Habana /  
Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA  
Universidad de Oviedo  
C/ Julián Clavería s/n  
33006, Oviedo

Tel: 985 102723  
Fax: 985 103534  
E-mail: ncapiro@correo.uniovi.es

**Castillo Buitrago, Vernon**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5811831  
Fax: 93 5812387  
E-mail: vcastillo@einstein.uab.es

**Catalá Medina, Josep**

Tecnopress  
08348 Cabrils (Barcelona)  
Tel: 93 753 2410  
Fax: 93 753 3557  
E-mail: jcatala@tecnopress.es

**Céspedes Vigoya, Walkiria**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5811831  
Fax: 93 5812387  
E-mail: walky@mailcity.com

**Comendador García, Miguel Angel**

Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA  
Universidad de Oviedo  
C/ Julián Clavería s/n  
33006, Oviedo  
Tel: 985 104195  
Fax: 985 103534  
E-mail: mac@correo.uniovi.es

**Creus Capdevila, Amadeu**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812052

Fax: 93 5812387

E-mail: Amadeu.Creus@uab.es

**Criado Alonso, Begoña**

Instituto Portugués de Oncología

Rua Bernardino de Almeida

4200 Oporto (Portugal)

Tel: +351 22550211, ext. 1430

E-mail: begonacriado@hotmail.com

**Cuéllar Pérez, Jorge**

Facultad de Ciencias Biológicas

Universidad SEK

C/ Cardenal Zuñiga, 12

40003 Segovia

Tel: 921 412410

Fax: 921 445593

E-mail: j\_cuellar\_2000@yahoo.es

**E**

**Espinoza Soto, Felicidad**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències

Universitat Autònoma de Barcelona

08193 Bellaterra (Barcelona)

Tel: 93 5812697

Fax: 93 5812387

E-mail: espinozafelicidad@hotmail.com

**F**

**Fernández López, Laura**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències

Universitat Autònoma de Barcelona

08193 Bellaterra (Barcelona)

Tel: 93 5812597

Fax: 93 5812387

E-mail: lfernandez@einstein.uab.es

**Flores Elices, Piedad**

Departamento de Enfermería I, Escuela Universitaria de Enfermería

Universidad del País Vasco

Apartado 644  
48080, Bilbao  
Tel: 94 6015612  
Fax: 94 4649511

## **G**

### **García Arribas, Olga**

Instituto de Salud Carlos III  
Carretera Majadahonda- Pozuelo, Km 2  
28220 Majadahonda (Madrid)  
Tel: 91 5097900, ext. 3022  
E-mail: olga.garcia@isciii.es

### **García Ortiz, M<sup>a</sup> Victoria**

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales, Edificio C5, 1<sup>a</sup> planta  
14071, Córdoba  
Tel: 957 218979  
Fax: 957 212072  
E-mail: b42gaorm@uco.es

### **García Sagredo, José Miguel**

Genética Médica  
Hospital Universitario Ramón y Cajal  
28034 Madrid  
Tel: 91 3368334 / 91 336 8339  
Fax: 91 3368791  
E-mail: jgarcias@hrc.insalud.es

### **García-Orad Carlés, África**

Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Medicina y Odontología  
Universidad del País Vasco  
Apdo. 644  
48080 Bilbao  
Tel: 94 6012909  
Fax: 94 4649266  
E-mail: gcpgacaa@lg.ehu.es

### **González Borroto, Jorge**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812597  
Fax: 93 5812387  
E-mail: jgonzalez@einstein.uab.es

**González Mancebo, Samuel**  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad SEK  
C/ Cardenal Zuñiga, 12  
40003 Segovia (España)  
Tel: 921 412410  
Fax: 921 445593  
E-mail: smancebo@sekmail.com

**Guillamet Cros, Emma**  
Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812597  
Fax: 93 5812387  
E-mail: eguillamet@einstein.uab.es

## **H**

**Hernández Bonilla, Alba**  
Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812597  
Fax: 93 5812387  
E-mail: alba.hernandez@campus.uab.es

**Hernando Gastañares, Julia**  
Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA  
Universidad de Oviedo  
C/ Julián Clavería s/n  
33006, Oviedo  
Tel: 985 102723  
Fax: 985 103534

E-mail: [jhg@correo.uniovi.es](mailto:jhg@correo.uniovi.es)

## **I**

### **Irurzun Zuazabal, Esther**

Departamento de Enfermería I, Escuela Superior de Enfermería

Universidad del País Vasco

Apartado 644

48080, Bilbao

Tel: 94 6015627

E-mail: [nfpirzue@clientes.euskaltel.es](mailto:nfpirzue@clientes.euskaltel.es)

## **J**

### **Jiménez Pasadas, Lourdes**

Facultad de Ciencias Biológicas

Universidad SEK

C/ Cardenal Zuñiga, 12

40003 Segovia

Tel: 921 412410

Fax: 921 445593

E-mail: [smancebo@sekmail.com](mailto:smancebo@sekmail.com)

### **Jiménez Sanz, Rosa M<sup>a</sup>**

Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias

Universidad del País Vasco

Apdo. 644

48080 Bilbao

Tel: 94 6012670 / 94 6015504

Fax: 94 4648500

E-mail: [qapjisar@lg.ehu.es](mailto:qapjisar@lg.ehu.es)

## **K**

### **Kirsch-Volders, Micheline**

Vrije Universiteit Brussel

Faculteit Wetenschappen

Laboratorium voor Cellulaire Genetica

Pleinlaan 2

1050 Brussel (Belgium)

Tel: +32 2 6293423

Fax: +32 2 6292759

E-mail: mkirschv@vub.ac.be

**Kossatz, Elk**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812597  
Fax: 93 5812387  
E-mail: ekossatz@einstein.uab.es

**L**

**López Castel, Arturo**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5811831  
Fax: 93 5812387  
E-mail: alopezc@einstein.uab.es

**Lostao Zuza, Carlos M<sup>a</sup>**

Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias  
Universidad del País Vasco  
Apdo. 644  
48080 Bilbao  
Tel: 93 601 2605 / 94 601 5952  
Fax: 94 4648500

**M**

**Madrid Rísquez, José**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales, Edificio *Severo Ochoa* (C-6), 2<sup>a</sup> planta  
14071 Córdoba  
Tel: 957 218082  
Fax: 957 218688  
E-mail: ppmadridr@hotmail.com

**Marcos Dauder, Ricard**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona

08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812052  
Fax: 93 5812387  
E-mail: Ricard.Marcos@uab.es

**Martín Moreno, Ana**  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad SEK  
C/ Cardenal Zuñiga, 12  
40003 Segovia  
Tel: 921 412410  
Fax: 921 445593  
E-mail: anamartin@sekmail.com

**Martínez González, Valeria**  
Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812597  
Fax: 93 5812387  
E-mail: valeria\_martinez@hotmail.com

**Matesanz Gómez, Rubén David**  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad SEK  
C/ Cardenal Zuñiga, 12  
40003 Segovia  
Tel: 921 412410  
Fax: 921 445593  
E-mail: smancebo@sekmail.com

**Migliore, Lucia**  
Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente  
Università di Pisa  
Via S. Giuseppe, 22  
56126 Pisa (Italia)  
Tel: +39 050 836223 / +39 050 836220  
Fax: +39 050 551290  
E-mail: l.migliore@geog.unipi.it

**Monje Casas, Fernando**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales, Edificio *Severo Ochoa*, 2ª planta  
14071 Córdoba  
Tel: 957 218082  
Fax: 957 218688  
E-mail: q62mocaf@uco.es

**Morales Ruiz, Mª Teresa**

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales, Edificio C-5, 1ª planta  
14071 Córdoba  
Tel: 957 218979  
Fax: 957 212072  
E-mail: gelaldue@uco.es

**Muñoz Fernández, Susana**

Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Medicina y Odontología  
Universidad del País Vasco  
Apdo. 644  
48080 Bilbao  
Fax: 94 4649266  
Tel: 94 6012909

**O**

**Ortega Azpitarte, Begoña**

Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias  
Universidad del País Vasco  
Apartado 644  
48080, Bilbao  
Tel: 94 6015952  
Fax: 94 4648500  
E-mail: bortazpi@yahoo.com

**Ortiz Lastra, Eduardo**

Departamento de Especialidades Médico-Quirúrgicas, Facultad de Medicina y  
Odontología  
Universidad del País Vasco

Apartado 644  
48080, Bilbao  
Tel: 94 6012000  
Fax: 94 4649266

**Ortiz Sallés, Trinidad**

Departamento de Biología Celular  
Universidad de Sevilla  
Avda. Reina Mercedes s/n  
41012 Sevilla  
Tel: 954 4557039  
Fax: 954 615780  
E-mail: salles@us.es

**P**

**de la Peña de Torres, Eduardo**

Centro de Ciencias Medioambientales  
CSIC  
C/ Serrano, 115 dpdo  
28006 Madrid  
Tel: 91 5625020  
Fax: 91 5640800  
E-mail: [epena@ccma.csic.es](mailto:epena@ccma.csic.es)

**Peñagarikano Ahedo, Olga**

Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias  
Universidad del País Vasco  
Apartado 644  
48080, Bilbao  
Tel: 94 6015952  
Fax: 94 4648500  
E-mail: [ggbpeaho@lg.ehu.es](mailto:ggbpeaho@lg.ehu.es)

**Piñero Bustamante, Joaquín**

Departamento de Biología Animal  
Universidad de Sevilla  
Avda. Reina Mercedes s/n  
41012 Sevilla  
Tel: 954 4557039  
Fax: 954 615780

E-mail: pinero@us.es

**Portela Mestres, Anna**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5811831  
Fax: 93 5812387  
E-mail: anna.portela@uab.es

**R**

**Remigio Montero, Antonia de la Caridad**

Centro para la Producción de Animales de Laboratorio, CENPALAB  
Finca Tirabeque Km 2, Carretera El Cacahual, Bejucal  
AP 3 La Habana (Cuba)  
Tel: 579008, 579058  
Fax: 579320  
E-mail: cetex@cenpalab.inf.cu / aremigioes@yahoo.es

**Rizki, Mostapha**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812597  
Fax: 93 5812387  
E-mail: mrizki@einstein.uab.es

**Rodríguez Calvo, Mónica**

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina y Odontología  
Universidad del País Vasco  
Apdo. 644  
48080 Bilbao  
Tel: 94 6015600  
Fax: 94 4800128  
E-mail: kfbrocam@lg.ehu.es

**Rodríguez Ortega, Manuel José**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales, Edificio *Severo Ochoa*, 2ª planta  
14071 Córdoba

Tel: 957 218082  
Fax: 957 218688  
E-mail: q62room@uco.es

**Romero Ruiz, Antonio**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales, Edificio *Severo Ochoa*, 2ª planta  
14071 Córdoba  
Tel: 957 218082  
Fax: 957 218688  
E-mail: b72rorua@uco.es

**Ruano Herrero, María Elena**

Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad SEK  
C/ Cardenal Zuñiga, 12  
40003 Segovia  
Tel: 921 412410  
Fax: 921 445593  
E-mail: smancebo@sekmail.com

**S**

**Seco García, Mª Luisa**

Lagunaro-Mondragon Servicios S. COOP.  
Paseo José Mª Arizmendiarieta, 1  
20500 Arrasate (Gipuzkoa)  
Tel: 943 790100  
Fax: 943 798080  
E-mail: msec@lagunaro.es

**Sierra Zapico, María**

Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA  
Universidad de Oviedo  
C/ Julián Clavería s/n  
33006, Oviedo  
Tel: 985 103889  
Fax: 985 103534  
E-mail: lmsierra@correo.uniovi.es

**Sousa, Leiliane P.**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812597  
Fax: 93 5812387  
E-mail: leilianesousa@yahoo.com

**Suárez Figueras, Susanna**

Instituto de Investigación e Análises Alimentarias  
Universidad de Santiago de Compostela  
Campus sur s/n  
15782 Santiago de Compostela  
Tel: 981 563100, ext. 16022  
Fax: 981 547171  
E-mail: ssuarez@usc.es

**Surrallés Calonge, Jordi**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5811830  
Fax: 93 5812387  
E-mail: Jordi.Surralles@uab.es

**T**

**Télez Sedano, Mercedes**

Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias  
Universidad del País Vasco  
Apartado 644  
48080, Bilbao  
Tel: 94 6012605 / 94 6015952  
Fax: 94 4648500  
E-mail: ggbtesem@lg.ehu.es

**U**

**Uriol Egido, Esther**

Área de Genética, Departamento de Biología Funcional e IUOPA  
Universidad de Oviedo  
C/ Julián Clavería s/n

33006, Oviedo  
Tel: 985 102723  
Fax: 985 103534  
E-mail: euriol@correo.uniovi.es

## **V**

### **Velázquez Henar, Antonia**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5813111  
Fax: 93 5812387  
E-mail: Antonia.Velazquez@uab.es

## **X**

### **Xamena López, Noel**

Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències  
Universitat Autònoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)  
Tel: 93 5812731  
Fax: 93 5812387  
E-mail: Noel.Xamena@uab.es