SEMA2003

XIIª REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGÉNESIS AMBIENTAL

SANTIAGO, 2, 3 y 4 DE JULIO DE 2003

PROGRAMA Y RESÚMENES

SEMA2003

XII^a REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGÉNESIS AMBIENTAL

SANTIAGO, 2, 3 y 4 DE JULIO DE 2003

PROGRAMA Y RESÚMENES

ÍNDICE

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente: Dr. Joaquín Garrido Vázquez

Vocal: Dr. Alejo Carballeira Ocaña

Vocal: Dr. Manuel López-Rivadulla Lamas

Vocal: Dr. Ángel Álvarez Prechous

Vocal: Dra. M. Carmen Pardiñas Añón

Vocal: Dra. M. Dolores Menéndez Prieto

Tesorera: Dra. Rosa Ana Sueiro Benavides

Secretaria: Dra. Susanna Suárez Figueras

COMITÉ CIENTÍFICO

Dr. Ricardo Marcos Dauder (Universitat Autónoma de Barcelona)

Dra. Carmen Pueyo de la Cuesta (Universidad de Córdoba)

Dr. Amadeu Creus Capdevila (Universitat Autónoma de Barcelona)

Dr. Eduardo de la Peña de Torres (CSIC, Madrid)

Dr. Felipe Cortés Benavides (Universidad de Sevilla)

Dra. Luisa María Sierra Zapico (Universidad de Oviedo)

Dr. Joaquín Piñero Bustamante (Universidad de Sevilla)

Dra. Carmen Barrueco FernándezCuervo (ISCIII, Madrid)

Dra. Isabel Arrieta Sáez (Universidad del País Vasco)

ORGANISMOS Y ENTIDADES COLABORADORAS

Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental (SEMA)

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

Asociación Española de Toxicología (AETOX)

Universidade de Santiago de Compostela

Consellería de Innovación, Industria e Comercio, Dirección Xeral de Investigación e Desenvolvemento (Plan Galego de Investigación e Desenvolvemento, PGIDT)

Consellería de Educación e Ordenación Universitaria, Dirección Xeral de Universidades

Consellería de Cultura, Comunicación Social e Turismo, Dirección Xeral de Turismo (TURGALICIA)

Ministerio de Ciencia y Tecnología

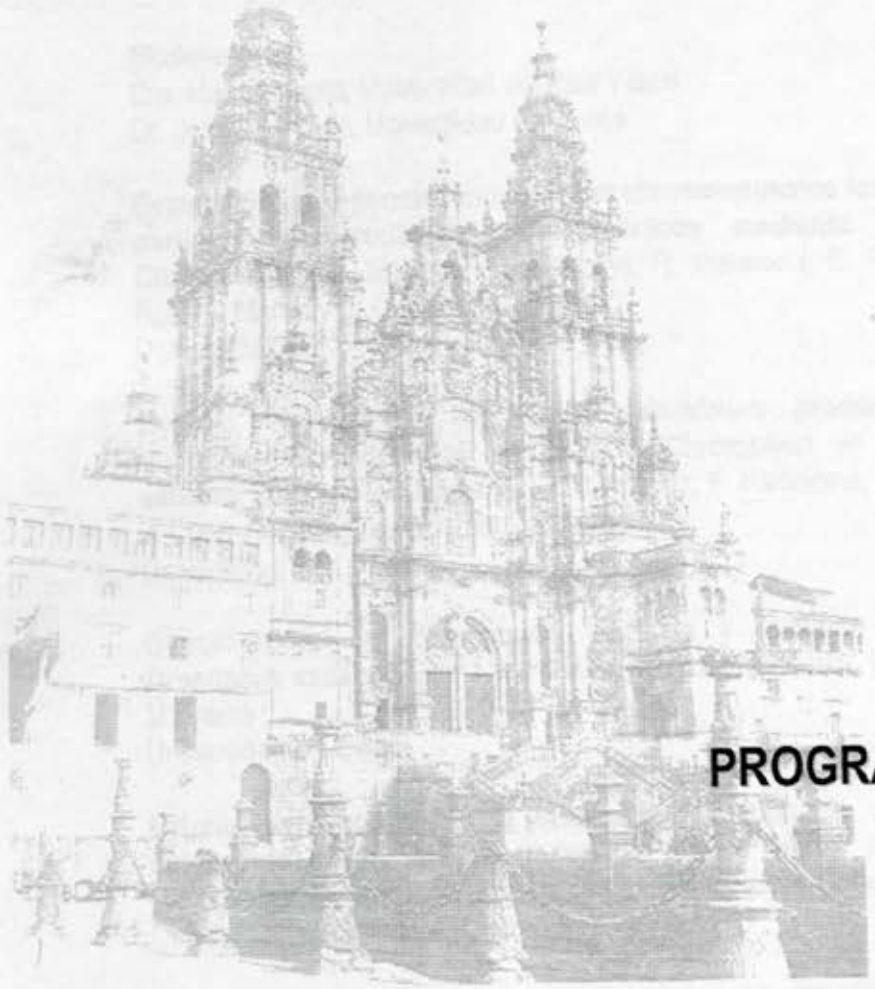
Concello de Santiago de Compostela

SEDE DE LA REUNIÓN

Auditorio de la Fundación Empresa Universidad Gallega (FEUGA)

Rúa Gome Lope Marzoa s/n

15782, Campus Sur (Santiago de Compostela)



PROGRAMA

PROGRAMA

Miércoles día 2

9:00-10:00 Entrega de documentación

10:00-10:30 Acto inaugural

10:30-11:15 **Repercusiones del vertido del "Prestige" en el ámbito de la seguridad alimentaria**. Manuel Barral Castro, Director General de Salud Pública.
Xunta de Galicia.

11:15-11:45 Café

12:00-13:45
SESIÓN 1

Moderadores:
Dra. Isabel Arrieta, Universidad del País Vasco
Dr. Joaquín Piñero, Universidad de Sevilla

Evaluación de la genotoxicidad de los nitrocompuestos formados a partir de antioxidantes hidroquinónicos mediante el SOS Chromotest. J.J. Jiménez, F. Bartolomé, R. Matesanz, E. Ruano, C. Ruiz, A. Martín y S. González-Mancebo
Universidad SEK

Estudio comparativo del efecto genotóxico producido por diferentes nitrosofenoles en el SOS Chromotest en distintas estirpes de *E. coli* R. Matesanz, J.J. Jiménez, F. Bartolomé, E. Ruano, J. Cuéllar, A. Martín y González-Mancebo S
Universidad SEK

Genotoxicidad del clorambucil, melfalán y busulfán *in vivo* en *Drosophila melanogaster* J. Hernando, M. A. Comendador, I. Sancho, L. y M. Sierra
Universidad de Oviedo

Estudio comparativo de la mutagenicidad inducida por distintos compuesto en la línea germinal de ambos sexos L. Álvarez, J. Hernando, L. M. Sierra, N. Díaz-Valdés, L. Tosal y M. A. Comendador
Universidad de Oviedo

Perfiles cuantitativos de expresión génica en mamíferos J. M. Cabrera-Luque, M. J. Prieto-Álamo y C. Pueyo
Universidad de Córdoba

Biomarcadores de expresión génica en estudios de contaminación ambiental. J. Ruíz-Laguna, N. Abril, J.M. Cabrera-Luque, M.J. Prieto-Alamo, J. López-Barea y C. Pueyo
Universidad de Córdoba

Efecto radiosensibilizador de la Wortmanina en líneas tumorales radioresistentes de vejiga M.A. Burguillos, S. López, J. Piñero y T. Ortiz

Universidad de Sevilla

13:45-16:00 Comida

16:00-17:00
SESIÓN 2

Moderadores:
Dr. Eduardo de la Peña, Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Dr. Ángel Álvarez, *Universidade de Santiago de Compostela*

Inducción de micronúcleos por Ocratoxina A: Estudio a 28 días en ratas Wistar L. Álvarez, O. Ezpeleta, A. G. Gil, L. Arbillaga y A. López de Cerain
Universidad de Navarra

Estudio específico de riesgos asociados a trabajadores de laboratorio expuestos a mutágenos y/o cancerígenos, y vigilancia de su salud I. Fiaño, S: Suarez, R.A. Sueiro, L. Ríos, E. Martínez, M. Ramos, B. Guillán, B. Otero, C. Dosil, M. D. Menéndez, J. Garrido y M. C.Pardiñas.
Universidade de Santiago de Compostela/ Mutua Universal

Influencia de determinados polimorfismos en enzimas metabólicas en la genotoxicidad del óxido de estireno B. Pérez, B. Laffon, E. Pásaro y J. Méndez
Universidade da Coruña

Análisis de la actividad genotóxica de envases activos (liberadores de etanol y absorbentes de oxígeno) utilizando ensayos en procariotas y eucariotas R. A. Sueiro, S. Suárez, M. Araujo y J. Garrido
Universidade de Santiago de Compostela

17:00-17:30 Café

17:30-18:30
SESIÓN 3

Moderadores:
Dra. Carmen Pueyo, Universidad de Córdoba
Dr. Joaquín Garrido, *Universidade de Santiago*

Estudio de los efectos mutagénicos de efluentes de aguas residuales urbanas e industriales como parte de la valoración ambiental. O. Herrero, S. Aguayo, A. de la Torre, M. Carballo, M.J. Muñoz, E. de la Peña
Centro de Ciencias Medioambientales. CSIC/ Centro de Investigación de Sanidad Animal. INIA

Genética y biología molecular de la Anemia de Fanconi E. Callén, M. Bogliolo, O. Cabré, V. Castillo, M.J. Ramírez, A. Creus, R. Marcos y J. Surrallés
Universitat Autónoma de Barcelona

Efecto de la MMC en la inestabilidad de las repeticiones CTG asociadas a la distrofia miotónica Tipo 1 L. Fernández, E. Piñeiro, J. Gámez, R. Marcos, A. Velázquez y J. Surrallés
Universitat Autónoma de Barcelona/ Hospital de la Vall d'Hebron (Barcelona)

Notas de orientación complementarias sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente (OMG) J. Parra-Morte
Instituto de Salud Carlos III

19:00-20:30 Visita guiada a la Tribuna y a las Cubiertas de la Catedral de Santiago
20:30 Recepción de bienvenida en el Ayuntamiento de Santiago de Compostela

Jueves día 3
9:30-10:30 **Polimorfismos genéticos e exposiçao a cancerígenos ambientais: presente e futuro.**
Jorge Gaspar
Universidade Nova de Lisboa (Portugal)

10:30-11:30
SESIÓN 4

Moderadores:
Dr. Waldo Venegas, Universidad de Concepción (Chile)
Dr. Jorge Gaspar, *Universidade Nova de Lisboa (Portugal)*

Genotoxicidad de tratamientos quimioterapéuticos *in vivo* en pacientes con sarcomas estimada mediante el ensayo del Cometa
E. Uriol, S. Quevedo, M. A. Comendador, M. Sierra, J.M. Buesa y L.M. Sierra
Universidad de Oviedo

Papel de los polimorfismos GST y NAT sobre la frecuencia de micronúcleos tanto basal como inducida por ^{131}I A. Hernández, N. Xamena, S. Gutiérrez, A. Velázquez, A. Creus, J. Surrallés, P. Galofré y R. Marcos
Universitat Autònoma de Barcelona/ Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona/ DNA Repair Group IARC

Frecuencias de SCE en trabajadores expuestos al arsénico L. Paiva, A. Creus y R. Marcos
Universitat Autónoma de Barcelona

Evaluación de la posible capacidad genotóxica del fármaco hipertensivo ß-bloqueante propranolol mediante el ensayo de micronúcleos en linfocitos humanos A. Marcos, L. Bartoli, M. Télez, B. Ortega, O. Peñagarikano, C. Montero, E. Ortiz, P. Flores y I. Arrieta
Universidad del País Vasco/ Universitá di Pisa

11:30-12:00 Café

12:30-13:15
SESIÓN 5

Moderadores:
Dra. Nieves Abril, Universidad de Córdoba
Dr. Ricard Marcos, Universitat Autónoma de Barcelona

Estudio de la capacidad genotóxica del amlodipino B. Ortega, A. Marcos, O. Peñagarikano, M. Télez, C. Montero, E. Ortiz, P. Flores, B. Criado y I. Arrieta.
Universidad del País Vasco/ Instituto Portugués de Oncología

Frecuencias de micronúcleos en linfocitos de una población chilena ambientalmente expuesta al arsénico V. Martínez, A. Creus, W. Venegas, A. Arroyo, J. Surrallés y R. Marcos
Universitat Autònoma de Barcelona/ Universidad de Concepción, (Chile)/ Universidad de Antofagasta (Chile)

Estudio genotóxico en un colectivo de mujeres poblacionalmente expuestas a emisiones industriales aéreas en la VIII región de Chile
Bravo S. y W. Venegas
Universidad de Concepción (Chile)

Estudio del efecto genotóxico de pesticidas en mujeres temporeras de la VIII región, Chile C. Márquez, M. A. García, W. Venegas y S. Duk
Universidad de Concepción (Chile)

Frecuencias de micronúcleos en individuos infectados por *Helicobacter pylori*. S. Suárez, R.A. Sueiro, J. Garrido, M.C. Pardiñas, M. D. Menéndez y A. Álvarez
Universidade de Santiago de Compostela/ Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela

13:15-16:00 Comida

16:00-18:00
SESIÓN 6

Moderadores:
Dra. L. María Sierra, Universidad de Oviedo
Dr. Amadeu Creus, Universitat Autónoma de Barcelona

Mutagenicidad de streptozotocina en células germinales femeninas de *Drosophila melanogaster:* influencia del sistema de tolerancia mediada por bypass del daño BTM I. Sancho, J. Hernando, M. A. Comendador y L. M. Sierra
Universidad de Oviedo

Influencia del sistema de tolerancia mediada por bypass (BTM) en la recombinación meiótica de *Drosophila melanogaster* N. Díaz-Valdés, L. M. Sierra y Comendador M. A.
Universidad de Oviedo

Efecto específico de tejido ejercido por un elemento BF-NOF sobre la interacción *zeste-white* de *Drosophila melanogaster* A. Portela,

M. Badal, O. Cabré y N. Xamena Noel
Universitat Autònoma de Barcelona

Estudio molecular y bioinformático del elemento FB-NOF de *Drosophila melanogaster* M. Badal, A. Portela, N. Xamena y O. Cabré
Universitat Autònoma de Barcelona

Papel del factor de replicación PCNA en la estabilidad genómica de *Drosophila melanogaster*: análisis de *fingerprints* de DNA y de *loci* microsatélite A. López, N. Xamena, R. Marcos y A. Velázquez
Universitat Autònoma de Barcelona

Actividad del cadmio frente a la genotoxicidad del dicromato potásico y del etilmetanosulfonato. Estudio con el test SMART de alas de *Drosophila* M. Riski, E. Kossatz, A. Creus, N. Xamena y R. Marcos
Universitat Autònoma de Barcelona

18:30-19:30 Visita guiada a la Tribuna y a las Cubiertas de la Catedral de Santiago
18:00-19:00 Asamblea de la SEMA

20:30 Cena Pazo de San Lorenzo

Viernes día 4
10:00-11:00
SESIÓN 7

Moderadores:
Dra. Mª José Prieto, Universidad de Córdoba
Dr. Samuel González-Mancebo, Universidad SEK

Mecanismo de formación de C-nitrosocompuestos genotóxicos a partir de antioxidantes hidroquinónicos y nitrito sódico E. Ruano, R. Matesanz, L. Jiménez, A. Martín y S. González-Mancebo S
Universidad SEK

Estudio del efecto protector de distintos vinos de la provincia de Segovia frente a la genotoxicidad causada por N-nitrosopirrolidina F. Bartolomé, J. J. Jiménez-Martínez, R. Matesanz, P. Castán, A. Martín y S. González-Mancebo
Universidad SEK

Estudio *in vitro* del efecto citotóxico del nitrosofenol sobre células epiteliales de rata. Efecto beneficioso de la vitamina C L. Jiménez, R. D. Matesanz, E. Ruano, S. González-Mancebo, M. L. Diago, M. Fernández y Martín A.
Universidad SEK

Antimutagenicidad del resveratrol, compuesto natural presente en alimentos M. Barea, O. García, M. T. Pollastrini, M. L. Pérez, M. Escaso y F. Sanz
Centro Nacional de Alimentación/ Agencia de Seguridad Alimentaria

11:00-11:30 Café

11:30-12:30

SESIÓN 8

Moderadores:
Dra. Teresa Roldán-Arjona, Universidad de Córdoba
Dr. Miguel Ángel Comendador, Universidad de Oviedo

El factor de transcripción y remodelamiento de cromatina CBF1P afecta principalmente a la reparación por escisión de nucleótidos en el núcleo del nucleosoma J. A. Ferreiro, N. G. Powell, N. Karabetsou, J. Mellor y R. Waters
Universidad de Oviedo/ University of Wales Swansea/ University of Wales Cardiff

Purificación y caracterización de ATPOLK, una ADN polimerasa de *Arabidopsis thaliana* que participa en la repliación del ADN dañado
M. V. García-Ortiz, R. R. Ariza y T. Roldán-Arjona
Universidad de Córdoba

Identificación y caracterización de una familia de ADN Glicosilasas implicadas en procesos de regulación génica en plantas T. Morales-Ruiz, A. P. Ortega-Galisteo, M. Salinas, R. R. Ariza y T. Roldán-Arjona
Universidad de Córdoba

Control de la expresión de los genes que codifican dos polimerasas de síntesis translesión en *Arabidopsis thaliana* M. J. Santiago, A. Luque-Santamaría, T. Roldán-Arjona, R. R. Ariza, M. Ruiz-Rubio y E. Alejandre
Universidad de Córdoba

12:30-13:30 Conferencia de clausura
El accidente del "Prestige". Actividades llevadas a cabo por el Instituto Español de Oceanografía en los medios bióticos y abióticos.
Juan José González
Instituto Español de Oceanografía

13:30-16:00 Comida

16:00- **Visita a las zonas afectadas por el accidente del "Prestige". Ría de Arousa, Cofradía de Aguiño, Monte da Curota, Castro de Baroña y Noia.**

RESÚMENES DE CONFERENCIAS

REPERCUSIONES DEL VERTIDO DEL PRESTIGE EN EL ÁMBITO DE LA SEGURIDAD ALIMENTARIA

Barral M.
Dirección Xeral de Saúde Pública, Consellería de Sanidade, Xunta de Galicia. Manuel.Barral.Castro@sergas.es

A raíz del vertido producido por el Prestige, la Consellería de Sanidade a través de la Dirección General de Salud Pública, en el ámbito de sus competencias en Seguridad Alimentaria en nuestra Comunidad, puso en marcha una serie de medidas encaminadas a vigilar la aptitud para el consumo de los productos del mar, con el objetivo de impedir la introducción de productos del mar contaminados en la cadena de alimentación.

A las medidas preventivas basadas en la prohibición de la pesca y el cierre de la extracción de marisco en las zonas afectadas establecidas por la Consellería de Pesca, se puso en marcha como medida de carácter urgente un plan de Intensificación de la vigilancia de la cadena de comercialización, en las industrias de la pesca (fundamentalmente en lonjas, depuradoras, cocederos de marisco y piscifactorías) y en mercados.

En el marco de dichas inspecciones, se hizo imprescindible disponer de criterios claros que permitieran determinar la aptitud de los productos de la pesca y la acuicultura para el consumo humano. Para ello se definieron unos criterios sensoriales (examen visual y organoléptico) y analíticos. Estos últimos se basaron en el establecimiento de unos valores guía para la contaminación por Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP), (sustancias identificadas como los más preocupantes para la salud). Para ello fue muy valiosa la experiencia e información emitida por el AFSSA en el caso Erika, y se contó con la colaboración de expertos de la AESA (Agencia de Seguridad Alimentaria) y de la OMS, así como la de una Comisión Científico-Técnica asesora promovida al efecto en nuestra comunidad.

En coordinación con la Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos y con la AESA se diseñó un plan de muestreo y análisis (en zonas de producción y de productos en comercialización) donde se definieron los protocolos de muestreo, los criterios para gestionar las aperturas de las zonas, así como las técnicas y metodología analíticas aplicables para la identificación y cuantificación de los HAPs en productos de la pesca (el laboratorio de Salud Pública de Lugo y el del Centro de Control del Medio Marino de Vilaxoan de la Consellería de Pesca y Asuntos Marítimos, forman parte de un grupo de trabajo de laboratorios a nivel nacional, en el que participa el laboratorio del Centro Nacional de Alimentación de Majadahonda, el del CSIC de Barcelona, el del Instituto Municipal de Barcelona, así como laboratorios oficiales de Valencia y del País Vasco, y también el laboratorio de ANFACO-CECOPESCA).

La intensidad de la actividad inspectora de vigilancia y control queda de manifiesto por las cerca de 30.000 inspecciones realizadas en industrias y establecimientos comercializadores de productos de la pesca, el marisqueo y la acuicultura hasta el día 17 de Junio. Por otra parte, los resultados derivados del muestreo y análisis de productos de la pesca en fase de comercialización reflejan un total de 526 muestras con un 100% de valores inferiores a los establecidos como valores guía.

Me gustaría por último destacar que en la gestión de esta crisis se puso de manifiesto el espíritu de colaboración y participación de las distintas instituciones, tanto autonómicas como estatales e internacionales, a la hora de establecer las medidas de actuación para la protección de la salud de los ciudadanos.

NOTAS:

POLIMORFISMOS GENÉTICOS E EXPOSIÇAO A CANCERÍGENOS AMBIENTAIS: PRESENTE E FUTURO.

Gaspar J.

Departamento de Genética, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa. e-mail: jgaspar.gene@fcm.unl.pt

Com o desenvolvimento do projecto de sequenciação do Genoma Humano, têm sido identificados numerososos polimorfismos genéticos, estimando-se que o número destes polimorfismos no genoma humano seja de aproximadamente 1.400.000. Cerca de 85% destes são polimorfismos de uma única base (SNP's). Quando estes ocorrem em regiões codificantes dos genes, poderão conduzir a substituições de aminoácidos e, ao ocorrerem em zonas regulatórias dos mesmos, poderão influenciar também os níveis de proteína. Alguns destes polimorfismos já foram associados com níveis e actividades proteicas alteradas *in vivo*, o que poderá conduzir à sua associação com a susceptibilidade individual para patologias crónico-degenerativas de que são exemplo as doenças oncológicas.

Como potenciais agentes cancerígenos têm sido identificados vários compostos endógenos e exógenos que podem lesar o DNA, levando ao processo de transformação celular. No entanto, este processo é modulado por um complexo metabolismo, no qual estão incluidos vários genes polimórficos, nomeadamente genes associados à reparação do DNA (ex: *XRCC1, ERCC2*), ao controlo do ciclo celular (ex: *p53*) e ao metabolismo de compostos cancerígenos (ex: *CYP1A1, GSTM1, GSTT1, NAT1*).

Vários estudos por nós desenvolvidos têm mostrado que alguns SNPs em genes potencialmente associados ao processo de cancerigénese podem modular os níveis dos diferentes biomarcadores associados à exposição a cancerígenos ambienciais. A título de exemplo cita-se os casos de:

- Polimorfismos no *CYP1A*, um enzima de fase I, que estão associados a diferentes níveis de aductos de DNA em populações ocupacionalmente expostas a Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (PAHs).
- Polimormorfismos nos genes *GST*, enzimas de fase II, tem sido associados com diferentes níveis de marcadores urinários resultantes da exposição ocupacional a estireno, e a diferentes níveis de lesão citogenética (micronúcleos) resultantes da exposição a hidroquinona.
- Polimorfismos no gene *ERCC2*, um gene associado à reparação do DNA, que tem sido associado a diferentes níveis de lesão genética em populações expostas ocuapcionalmente a benzeno e estireno.

Devido ao elevado número de polimorfismos potencialmente associados ao metabolismo e à reparação da lesão genética resultante da exposição a cancerígenos, a identificação de um dado polimorfismo associado à susceptibilidade individual, não permite excluir que polimorfismos em outros genes não possam também estar igualmente associados ao mesmo processo. As metodologias disponíveis no momento para genotipagem (ex: PCR/RFLP, PCR/SSCP) não permitem de uma forma rápida o estudo de todos os potenciais polimorfismos envolvidos na susceptibilidade individual para a lesão genética. Por estas razões está em curso no nosso laboratório o desenvolvimento de novas metedologias de genotipagem, baseada em *chips* de DNA, para se poder efectuar o estudo simultâneo de um grande número de SNP's

potencialmente associados com variações na susceptibilidade interindividual para a lesão genética, e ainda metodologias envolvendo a utilização de *pools* de DNA para identificação de polimorfismos genéticos potencialmente associados à susceptibilidade individual para doenças neoplásicas (cancro do pulmão, mama, entre outas).

NOTAS:

EL ACCIDENTE DEL "PRESTIGE". ACTIVIDADES LLEVADAS A CABO POR EL INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFIA EN LOS MEDIOS BIÓTICOS Y ABIÓTICOS.

González J.J.
Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Vigo, Cabo Estay-Canido, 36200, Vigo
e-mail: jjose.gonzalez@vi.ieo.es

NOTAS:

RESÚMENES DE COMUNICACIONES

EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD DE LOS NITROSOCOMPUESTOS FORMADOS A PARTIR DE ANTIOXIDANTES HIDROQUINÓNICOS MEDIANTE EL SOS CHROMOTEST

Jiménez J. J., Bartolomé F., Matesanz R., Ruano E., Ruiz C., Martín A. M. y González-Mancebo S.

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad SEK

C/ Cardenal Zuñiga, 12. 40003-Segovia (España)

El *terc*-butil-4-hidroxianisol (BHA) y el 2,6-di-*terc*-butil-*para*-hidroxitolueno (BHT) son antioxidantes hidroquinónicos utilizados con gran asiduidad como aditivos alimenticios y conservantes. Por otra parte, el nitrito sódico se emplea en el curado de productos cárnicos para desarrollar y fijar el color, para inhibir los microorganismos y para desarrollar gustos característicos. La combinación de nitrito sódico y los antioxidantes hidroquínicos citados anteriormente conducen a la formación de nitrosocompuestos: NBHA y del NBHT (Ruano E., 2003).

En este trabajo de investigación se estudió la genotoxicidad del NBHA y del NBHT mediante el test de mutagenicidad SOS Chromotest.

El SOS Chromotest se realizó con tres estirpes de *Escherichia coli*: PQ37, PQ243 y PQ253. En la parte cualitativa (SOS Spot Test), donde se prueba la genotoxicidad de compuestos, se comprobó que el NBHA era genotóxico y, por el contrario, el NBHT no. En la parte cuantitativa (SOS Chromotest), se determinó el valor del SOSIP para el NBHA. Se realizaron los mismos ensayos utilizando posibles inhibidores: ácido ascórbico, ácido *para*-aminobenzoico, α-tocoferol y β-ciclodextrina. Se observó una reducción del valor del SOSIP en todos los casos, prueba evidente de la disminución de la genotoxicidad del nitrosocompuesto por los inhibidores utilizados.

Referencias:

1. Ruano E., Genotoxicidad de Antioxidantes Hidroquinónicos por Formación de C-nitrosocompuestos, Trabajo Fin de Carrera, 2003. Universidad SEK-Segovia.

NOTAS:

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO GENOTÓXICO PRODUCIDO POR DIFERENTES NITROSOFENOLES EN EL SOS CHROMOTEST EN DISTINTAS ESTIRPES DE *E. coli*

Matesanz R., Jiménez J. J., Bartolomé F., Ruano E., Cuéllar J., Martín A. M. y González S.

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad SEK. C/ Cardenal Zuñiga, 12. 40003-Segovia (España)

Los nitrosocompuestos juegan un importante papel en la carcinogénesis humana[1] y dado que el hombre se encuentra expuesto diariamente a una gran cantidad de estos nitrosocompuestos[2] es importante conocer su poder genotóxico.

En este trabajo se ha estudiado la genotoxicidad producida por el nitrosofenol y sus derivados alquilados, meta-metilnitrosofenol, orto-metilnitrosofenol y orto-alilnitrosofenol, con el test de mutagenicidad SOS Chromotest. Se realizó un estudio comparativo con tres estirpes diferentes de Escherichia coli: PQ37, PQ253 y PQ243. Se estudió la parte cualitativa (SOS Spot Test) en la que se prueba la genotoxicidad de estos compuestos, y una valoración cuantitativa (SOS Chromotest) en la cual se determina cuan genotóxico es cada compuesto mediante el cálculo del valor de SOSIP. En todos los ensayos realizados con el SOS Spot Test se obtuvo una respuesta positiva, la cual es indicativa de la genotoxicidad de los nitrosofenoles. Al cuantificar la genotoxicidad, los resultados demostraron que el nitrosofenol es el compuesto que mayor efecto genotóxico produce, no observándose diferencias significativas entre las distintas cepas a pesar de su variada sensibilidad a los agentes alquilantes debido a sus diferentes características. Estos mismos ensayos se realizaron en presencia de tres posibles inhibidores de su acción, ácido ascórbico, ácido para-aminobenzoico y α-ciclodextrina. Los resultados obtenidos tanto el parte cualitativa como en la cuantitativa demuestran que tales compuestos reducen sensiblemente el efecto genotóxico de estos nitrosocompuestos.

Para comprobar el efecto que estos compuestos producían en el DNA, se estudió la interacción de los nitrosocompuestos con el DNA plasmídico pUC18 de Escherichia coli PQ37. Una vez analizados los resultados de la secuenciación de dicho DNA se llegó a la conclusión que este tipo de compuestos producen mutaciones (principalmente transiciones G:C $\rightarrow$ A:T) por desaminación oxidativa.

Referencias:

(1) Loeppky, R. and Michejda, Ch., (1994). Nitrosamines and Related N-Nitroso Compounds. Chemistry and Biochemistry. Editorial Oxford. USA.

(2) Lijinsky, W. (1999). N-Nitroso compounds in the diet. Mutation Research, 443, 129-138.

NOTAS:

GENOTOXICIDAD DE CLORAMBUCIL, MELFALÁN Y BUSULFÁN *in vivo* EN *Drosophila melanogaster*: MECANISMOS DE ACCIÓN

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

Área de Genética. Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo.

El análisis de la genotoxicidad de agentes químicos puede llevarse a cabo mediante una gran variedad de ensayos que aportan informaciones diferentes y complementarias sobre sus respectivos mecanismos de acción. Por esta razón, en este trabajo se ha analizado la genotoxicidad *in vivo* 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 tres ensayos diferentes de *D. melanogaster*: el test de letales recesivos ligados al sexo (SLRL), un ensayo de recombinación meiótica, ambos realizados tratando células germinales femeninas, y el ensayo del cometa llevado a cabo en neuroblastos. Además, se ha estudiado la influencia del sistema de tolerancia mediada por *bypass* (BTM), representado por el locus *mus308*, en los dos ensayos germinales.

Los tres compuestos resultaron mutagénicos en el test SLRL en ambas condiciones de reparación, encontrándose además hipermutabilidad, lo que indica la participación del sistema BTM, en el procesamiento de las lesiones inducidas por estos agentes. Por otro lado, los daños inducidos por estos compuestos en el ADN son capaces de modificar significativamente las frecuencias de recombinación meiótica entre 5 marcadores del cromosoma X, y se observa también una influencia del sistema BTM. Por último, los resultados del ensayo del cometa revelan diferencias entre los tres compuestos.

El conjunto de los resultados indica que los daños inducidos por estos compuestos son fuente de mutaciones y de recombinación en células germinales, y que estos daños pueden originar roturas de ADN en células somáticas. Por otro lado, a pesar de que los tres compuestos se consideran agentes inductores de enlaces cruzados, se aprecian diferencias en su modo de actuación debidas quizá a la proporción relativa de los distinto tipos de lesiones que pueden originar. Además, se pone de manifiesto la participación del sistema BTM en el procesamiento o reparación de los daños inducidos por estos compuestos y su influencia sobre los procesos de recombinación.

NOTAS:

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA MUTAGENICIDAD INDUCIDA POR DISTINTOS COMPUESTOS EN LA LÍNEA GERMINAL DE AMBOS SEXOS

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

Área de genética. Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo.

La respuesta a los agentes genotóxicos depende no sólo del organismo estudiado, sino tambien de las condiciones fisiológicas de las células analizadas, y por lo tanto varía entre las células germinales de ambos sexos. A pesar de ello los estudios de mutagenicidad en células germinales femeninas de eucariotas superiores, son escasos, y más aún aquellos que estudian los efectos de los sistemas de reparación.

En este trabajo se pretende dar una visión comparativa de la mutagenicidad de dos compuestos modelo, con mecanismos de acción diferentes y conocidos, como son ENU y DES, en las líneas germinales masculina y femenina de *D. melanogaster*. Además, se ha analizado la influencia de los sistemas de reparación NER (reparación por escisión de nucleótido) y BTM (mecanismo de tolerancia mediada por bypass del daño) en la reparación de daños en los átomos de oxígeno y nitrógeno del DNA en ambas líneas germinales.

Los resultados indican que las células femeninas son menos susceptibles a la acción de los compuestos que inducen daños de reparación fácil que las células postmeióticas masculinas, probablemente debido a que disponen de más tiempo para la actuación de los sistemas de reparación en comparación con lo que sucede cuando la reparación es materna. Así, los efectos de dichos sistemas a nivel de frecuencias de letales recesivos son bastante más evidentes y detectables en células femeninas que en las masculinas. Por otro lado, mientras que el análisis de espermatogonias resulta difícil o imposible, como ocurre en ocasiones con las oogonias, los oocitos son un buen modelo para estudios de mutagenicidad en células germinales premeióticas. Sin embargo estas células presentan más problemas a la hora de determinar la reparación de daños concretos, probablemente debido a que toda la maquinaria celular está expuesta al mutágeno.

Este trabajo muestra importantes diferencias en respuesta a la exposición genotóxica entre las células germinales masculinas y femeninas lo que pone de manifiesto la necesidad de llevar a cabo los estudios de mutagenicidad en la línea germinal en ambos sexos.

NOTAS:

PERFILES CUANTITATIVOS DE EXPRESIÓN GÉNICA EN MAMÍFEROS

Cabrera-Luque J. M., Prieto-Álamo M. J. y Pueyo C.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Campus de Rabanales. Universidad de Córdoba.

Las células se enfrentan a situaciones de estrés modulando los niveles de expresión de distintos grupos de genes. Las células eucariotas regulan la expresión génica a distintos niveles, destacando la regulación de la transcripción, el control del procesamiento del RNA y el control de la estabilidad del mRNA. Nuestro grupo ha desarrollado una metodología basada en el uso combinado de RT-MPCR y PCR en tiempo real que permite cuantificar simultáneamente de forma precisa y absoluta el patrón transcripcional de un amplio conjunto de genes, obviando los problemas de las técnicas más tradicionales. En este trabajo hemos analizado la expresión *in vivo* de un grupo de genes de ratón que codifican la hemo oxigenasa 1 (*HO1*), proteína A170, peroxirredoxina I (*PRDXI*), familia de proteínas Hsp70, endonucleasa de sitios abasicos (*APEX*), 8-oxoguanina glicosilasa (*OGG1*) y oncogen *c-fos*. En conjunto estas proteínas participan en la reparación de los daños oxidativos en el DNA, son sensibles al estado redox intracelular, y/o cumplen funciones antioxidativas o reguladoras. También hemos incluido dos genes utilizados habitualmente como genes de referencia en la mayoría de los estudios de expresión génica: el gen que codifica la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (*GAPDH*) y la β-actina (*ACTB*).

Se han analizado los niveles de expresión de dichos genes en diferentes órganos de ratones BALB/c (hígado, riñón, pulmón, testículo, cerebro, corazón y bazo). Hemos cuantificado los niveles basales de expresión y en respuesta a estrés oxidativo inducido por paraquat (generador de superóxido). Asimismo, se ha estudiado la estabilidad de los transcritos mediante inhibición de la transcripción por exposición a actinomicina D. En primer lugar cabe destacar la escasa variabilidad de los niveles basales de expresión entre individuos. Así, cuando se cuantificó el mRNA del gen *HO1* en hígados procedentes de 6 indivuos diferentes se obtivieron 3496 ± 128 moléculas/ng RNA total. Por el contrario, el número de copias de los distintos transcritos varió considerablemente entre tejidos: p.e. en el bazo se cuantificaron 44110 moléculas/ng RNA total del mRNA del gen *HO1*, mientras que en cerebro los niveles fueron 50 veces menores. Los genes *GAPDH* y *ACTB* también mostraron una considerable variabilidad entre tejidos, subrayando la importancia de la cuantificación absoluta del número de transcritos. En los animales tratados con paraquat se pusieron de manifiesto especificidades tisulares en los patrones de expresión de los diferentes genes. El tratamiento con 30 mg/kg de paraquat produjo en hígado el máximo incremento de expresión del gen *HO1* a los 120 min (25,9 veces), mientras que en pulmón el máximo de inducción de dicho gen se alcanzó a los 240 min (8,2 veces). Por el contrario en riñón fue el gen *c-fos* quien sufrió la mayor inducción (21,4 veces) a tan sólo 30 min de exposición a este oxidante. El testículo resultó un órgano particularmente bien protegido frente a la acción del paraquat, resultando inducido de forma significativa sólo el gen *HO1* (3,4 veces) al mayor tiempo de exposición ensayado (240 min). También se han observado diferencias en la estabilidad de los transcritos en función del órgano estudiado. En general, el hígado, seguido de riñón, fue el órgano donde los mensajeros presentaron vidas medias más cortas. En pulmón y testículo los transcritos mostraron una gran estabilidad. Parecen existir, por tanto, mecanismos tisulares específicos que controlan la estabilidad de los mRNA.

(Financiación BMC2002-00179).

NOTAS:

BIOMARCADORES DE EXPRESIÓN GÉNICA EN ESTUDIOS DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

Ruíz-Laguna J., Abril N., Cabrera-Luque J. M., Prieto-Alamo, M. J., López-Barea J. y Pueyo C.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba

Un estudio adecuado de la contaminación debe combinar la detección de contaminantes en el ecosistema y de sus efectos en organismos bioindicadores, para lo que se usan las respuestas de diversos parámetros o biomarcadores. Este trabajo investiga el uso de biomarcadores de expresión génica en el ratón moruno *Mus spretus.* La expresión génica se ha cuantificado por una nueva metodología desarrollada por nuestro grupo que combina RT-MPCRs y PCRs en tiempo real. Dicha estrategia genera datos cuantitativos absolutos en relación a una amplia gama de transcritos distintos. El organismo indicador elegido es un animal común no protegido que constituye un importante eslabón en la cadena trófica en Andalucía. Los análisis se han realizado en diferentes órganos (hígado, riñón y pulmón) de individuos procedentes de zonas de Andalucía con distintos niveles de contaminantes.

Se ha comenzado analizando seis grupos de transcritos. El *lote 1* incluye genes implicados en la reparación de ADN (*OGG1, APE1*), regulación de la expresión génica (*c-fos*), alteración de proteínas (*HSP70*) y respuesta a estrés oxidativo (*HO1, A170, PRDXI*), y ha sido ampliamente estudiado por nuestro grupo en ratones BABL/c (*M. musculus*). Respecto a los niveles basales de expresión en *M.spretus*, cabe destacar la homogeneidad entre individuos y las diferencias entre órganos. Además, genes como *c-fos* mostraron una expresión diferencial dependiendo de la zona de procedencia de los animales.

Los *lotes 2a, 2b* y *3* comprenden genes pertenecientes a dos superfamilias génicas: glutatión S-transferasas (GSTs) (enzimas de fase II) y citocromo P450 (CYPs) (enzimas de fase I), implicados en la destoxificación y bioactivación de una gran variedad de compuestos. El *lote 4* incluye genes de defensa antioxidante, como SODs, catalasa y metalotioneínas, y el *lote 5* está formado por genes de alerta temprana pertenecientes a las familias Fos y Jun. Los cebadores se han diseñado en base a las secuencias de *M. musculus*, pues se desconocen las de *M. spretus*. La sensibilidad y repetitividad de las PCRs múltiples se aseguró exigiendo a los cebadores: *i)* extremos 3´ con alta ΔG de dimerización; *ii)* valores de Tm parecidos y $\geq 80^{o}C$; *iii)* productos de PCR con 90-185 pb y que se diferencian entre sí en ≥ 8 pb. La especificidad de los productos de PCR se comprobó por secuenciación de los amplificados de *M. musculus* y de *M. spretus*, comparándose por primera vez las secuencias de fragmentos de genes de ambas especies.
Cuantificaciones preliminares por PCR en tiempo real sugieren la existencia de importantes diferencias en los niveles basales de expresión en hígado de muchos de estos genes, tanto entre los componentes de un mismo lote (en *M.spretus*, 270 moléculas/pg del transcrito *GSTM1* frente a 0,06 de *GSTM3* ó 250 moléculas/pg del transcrito *CYP2E1* frente a 0,1 de *CYP1A1*), como entre ambas especies de ratones (10^6 moléculas/pg del transcrito *CYP4A10* en *M.spretus* frente a 10 en *M.musculus*), que pueden ser reflejo de la importancia de las distintas enzimas en la defensa del organismo frente a la contaminación ambiental.

(Financiación: MCyT:BMC2002-00179 y PICOVER, CMAmbiente, JA)

NOTAS:

EFECTO RADIOSENSIBILIZADOR DE LA WORTMANINA EN LÍNEAS TUMORALES RADIORESISTENTES DE VEJIGA

Burguillos M. A.,López S., Piñero J. y Ortiz T.

Dpto Biología Celular. Universidad de Sevilla

Se ha utilizado líneas tumorales de vejiga, con diferente radiosensibilidad y niveles constitutivos de proteína p53, para analizar la efectividad de la wortmanina en el incremento de la letalidad inducida mediante distintas dosis de rayos X. Para elle usamos el ensayo colorimétrico MTT. Debido a que la wortmanina puede inhibir a la quinasa dependiente de ADN (ADN-PK) y por tanto la unión de las roturas de doble cadena de ADN (DSBs), analizamos los contenidos constitutivos y la expresión de la subunidad catalítica del ADN-PK (DNA-PKcs) tras la irradiación en nuestras líneas celulares con el objetivo de explicar los diferentes efectos de la wortmanina como agente radiosensibilizador.

Considerando que la DNA-PK es el principal complejo proteico involucrado en la reparación del daño de doble cadena de ADN, la habilidad para producir DSBs tras la irradiación (con o sin wortmanina) se ha evaluado en las diferentes líneas celulares mediante el uso de geles de electroforesis de campo pulsado.

Nuestros resultados indicaron mayor radiosensibilización en las líneas radioresistentes las cuales muestran tanto un alto contenido constitutivo de DNA-PKcs como una alta tasa de reparación temprana de ADN. Por otro lado, no se observó ningún efecto radiosensibilizador de la wortmanina en la línea radiosensible, caracterizada previamente como defectuosa en reparación de DSB, con bajo contenido constitutivo y expresión tardia de DNA-PKcs tras la irradiación. No se observó un claro efecto relacionado con el nivel de p53 en la línea celular en cuestión.

Los resultados suguieren que los altos niveles constitutivos de DNA-PKcs son indicativos de fenotipos radioresistentes y el análisis de la expresión de estas proteínas podría ser de utilidad en el establecimiento óptimo de la wortmanina como un radiosensibilizador en líneas tumorales de vejiga.

NOTAS:

INDUCCIÓN DE MICRONÚCLEOS POR OCRATOXINA A: ESTUDIO A 28 DÍAS EN RATAS WISTAR

Álvarez L., Ezpeleta O., Gil A. G., Arbillaga L. y López de Cerain A.

Laboratorio de Toxicología, CIFA, Universidad de Navarra, C/ Irunlarrea 31008 Pamplona acerain@unav.es.

La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina producida por especies de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* que contamina alimentos como cereales, café, vinos, uvas pasas y otros. Entre sus propiedades tóxicas destaca su nefrotoxicidad, siendo el cerdo la especie más sensible. En el ser humano se ha relacionado con la nefropatía endémica de los Balcanes y ha sido clasificada por la IARC como carcinógeno de clase 2B (posible carcinógeno humano). Aunque en un principio la mayoría de los estudios descartaban su acción mutagénica, datos más recientes indican efectos genotóxicos, si bien el mecanismo de acción no es conocido.

El objetivo de este trabajo era determinar la capacidad de inducción de micronúcleos (MN) por esta micotoxina en un modelo *in vivo* de ratas Wistar a las que se les administró OTA por vía oral durante 28 días. En el diseño experimental se establecieron cinco grupos de animales: Un grupo control tratado con el vehículo (disolución de bicarbonato 0,1 M a pH 7,4); tres grupos tratados con 50, 150 o 450 µg de OTA / Kg de p.c.; un grupo control positivo al que se le administró mitomicina C (12 mg/Kg), y que fue sacrificado 24 h después del tratamiento. Al día siguiente de la última administración se sacrificaron los animales y se realizaron frotis de médula ósea obtenida a partir del fémur. También se obtuvo sangre del plexo retrorbicular a partir de la cual se determinó la concentración plasmática de OTA mediante cromatografía líquida de alta resolución y detector de fluorescencia. Las concentraciones halladas en los tres grupos tratados fueron: 186,9 µg/L, 600,1 µg/L y 806,7 µg/L respectivamente. Las preparaciones se tiñeron con May-Grunwald-Giemsa, se montaron y se codificaron antes de ser analizadas al microscopio. Se contaron hasta 1000 células para verificar la relación eritrocitros policromáticos (EPC) /eritrocitos normocromáticos (ENC) y se completó el recuento hasta 1000 EPC en los que se identificaron los MN. La relación EPC/ENC no indicó ningún signo de citotoxicidad, si bien la concentración más alta empleada en el estudio produce alguna leve alteración renal detectadas en las preparaciones histológicas. No se han encontrado diferencias significativas en el número de MN entre el control negativo y los tres grupos de tratamiento, por lo que en las condiciones de este estudio la OTA no ha resultado mutagénica.

NOTAS:

ESTUDIO ESPECÍFICO DE RIESGOS ASOCIADOS A TRABAJADORES DE LABORATORIO EXPUESTOS A MUTÁGENOS Y/O CANCERÍGENOS, Y VIGILANCIA DE SU SALUD

[1]Fiaño I., [2]Suárez S., [2]Sueiro R. A. [1]Ríos L., [1]Martínez E., [1]Ramos M, [1]Guillán B., [1]Otero B., [3]Dosil C., [4]Menéndez M. D., [2]Garrido J. y [1] Pardiñas M. C.

[1]Servicio de Vigilancia de la Salud USC, [2]Instituto de Inv. y Análisis Alimentarios USC, [3]Mutua Universal, [(4)] Complejo Hospitalario Universitario Santiago.

Este proyecto pretende realizar una evaluación de carácter específico del riesgo asociado a trabajadores de laboratorio expuestos a mutágenos y/o cancerígenos, y vigilancia de su salud. Valorando también si los indicadores ambientales y biológicos seleccionados responden a las expectativas.

Para ello, se compararán dos poblaciones de individuos, una de ellas constituida por una muestra representativa de trabajadores que desarrollan rutinariamente sus tareas en laboratorios de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago y otra población control formada por trabajadores de facultades no experimentales (Matemáticas, Psicología, Filosofía, etc), con las tareas y entornos sociales similares a excepción de la exposición a compuestos químicos.

En la ejecución de este trabajo, se realizaron encuestas para obtener un adecuado registro de los antecedentes médicos y profesionales de cada trabajador; así mismo, se harán exploraciones físicas completas adaptadas a los protocolos de vigilancia de la salud vigentes, y los controles ambientales y biológicos adecuados. Adicionalmente, se realizará la detección de la actividad mutagénica y genotóxica de la orina, así como la detección de lesiones en el material genético mediante mucosa bucal y sangre de los trabajadores.

La realización de este trabajo aportará datos fundamentales en materia de salud laboral, dado que será el primer estudio en el que se tendrán en cuenta la interacción de distintos agentes implicados en la aparición de lesiones en el material genético. Así mismo, en este estudio confluirán distintas disciplinas, como la salud laboral, la toxicología genética y la epidemiología, aportando información interrelacionada que se complementa, ayudando así a la obtención de un mayor nivel de interpretación y compresión de los datos obtenidos.

NOTAS:

INFLUENCIA DE DETERMINADOS POLIMORFISMOS EN ENZIMAS METABÓLICAS EN LA GENOTOXICIDAD DEL ÓXIDO DE ESTIRENO

Pérez-Cadahía B.[1,2], Laffon B.[1,2], Pásaro E.[2] y Méndez J.[1]

[1]Dpto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Campus A Zapateira s/n, Universidade da Coruña.

[2]Instituto de Ciencias de la Salud, Universidade da Coruña.E-mail: fina@udc.es

El estireno es un líquido incoloro, muy refractario, cuya estructura química corresponde a un hidrocarburo monoaromático con un grupo vinilo. El especial interés que despierta radica en que se utiliza durante la elaboración de numerosos productos plásticos reforzados con fibra de vidrio, aislantes, resinas etc. La principal vía de penetración del estireno en el organismo es la inhalación. Una vez incorporado es metabolizado por las monooxigenasas del citocromo P450 a óxido de estireno (SO), principal metabolito y compuesto muy reactivo al que se le atribuyen los efectos genotóxicos resultantes de la exposición a estireno. A partir de aquí existen dos rutas principales en las que intervienen las enzimas epóxido hidrolasa y glutation *S*-transferasas. Los genes que codifican para estas enzimas presentan carácter polimórfico, pudiendo afectar a la función de las proteínas codificadas. En el presente trabajo hemos evaluado la capacidad de los polimorfismos en los genes EPHX1, GSTP1, GSTM1 y GSTT1 para modular el potencial genotóxico del SO. Se han utilizado leucocitos periféricos de 30 donantes sanos, que han sido tratados *in vitro* con SO a dosis de 50 y 200µM, utilizando DMSO como control negativo, y se ha determinado el daño inducido en el ADN mediante el ensayo del cometa. Los resultados muestran incrementos en el daño sobre el ADN relacionados con los polimorfismos en EPHX1 que codifican para isoformas de la enzima que presentan una actividad baja, así como en los individuos portadores de alelos variantes de GSTP1, que originan enzimas con alteraciones de afinidad sustrato-dependientes. Sin embargo para los genes GSTM1 y GSTT1, cuyo polimorfismo deriva en ausencia de producto, no se han detectado efectos sobre el daño genotóxico ocasionado. Los resultados de este trabajo sugieren que los polimorfismos en los genes metabólicos EPHX1 y GSTP1 pueden afectar a la inducción de daño en el ADN por el SO.

NOTAS:

ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD GENOTÓXICA DE LOS ENVASES ACTIVOS (ABSORBENTES DE OXÍGENO Y LIBERADORES DE ETANOL) UTILIZANDO ENSAYOS EN PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS

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

Instituto de Investigación e Análises Alimentarias, Universidade de Santiago de Compostela

Una tecnología naciente en sistemas de envasado de alimentos la constituyen los llamados envases, dispositivos o conceptos activos e inteligentes. Su aparición está asociada a la mejora de las condiciones de mantenimiento, bien sea alargando su vida útil o bien informando al consumidor acerca de la historia del alimento envasado o de las condiciones de su mantenimiento.

En el caso de productos de panadería y bollería, se considera que los absorbentes de oxigeno y los liberadores de etanol son los conceptos activos más adecuados. Con ellos, se previene el desarrollo de los hongos y bacterias aerobias y se puede retardar el endurecimiento, prolongando así su vida útil.

Teniendo en cuenta las potenciales ventajas de seguridad e higiene que este tipo de dispositivos pueden suponer y la práctica ausencia de conocimiento que existe sobre los mismos, se realizó la evaluación genotóxica del los conceptos activos: absorbentes de oxigeno y liberadores de etanol mediante ensayos en procariotas (ensayo de mutación reversa con las cepas de *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 y TA1537 y las cepas de *Escherichia coli* WP2*uvrA* y WP2*uvrA* pKM101) y en eucariotas (ensayo de micronúcleos en linfocitos humanos de sangre periférica).

Los conceptos activos seleccionados se sometieron a una extracción orgánica y los extractos resultantes se usaron en los ensayos de genotoxicidad. El estudio se realizó tanto en presencia como en ausencia de la fracción microsomal S9 empleando un rango de concentraciones entre 5 y 0,3 mg/placa en los ensayos en procariotas y entre 5 y 0,5 mg/ml en los ensayos en eucariotas. Los resultados obtenidos indican la ausencia de actividad genotóxica de los absorbentes de oxígeno y liberadores de etanol analizados. Bajo las condiciones de ensayo empleadas, los conceptos activos analizados no constituyen un riesgo para la salud pública desde el punto de vista genotóxico.

NOTAS:

ESTUDIO DE LOS EFECTOS MUTAGÉNICOS DE EFLUENTES DE AGUAS RESIDUALES URBANAS E INDUSTRIALES COMO PARTE DE LA VALORACIÓN AMBIENTAL

Herrero O.[1], Aguayo S.[2], de la Torre A.[2], Carballo M.[2], Muñoz M. J.[2] y de la Peña E.[1]

[1] Centro de Ciencias Medioambientales. CSIC. C/ Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid. (epena@ccma.csic.es)

[2] Centro de Investigación de Sanidad Animal. INIA. Valdeolmos. Madrid. (reoyo@sanidadanimal.info)

Se señala la importancia de estudiar la mutagenicidad de las aguas residuales, dada la presencia de contaminantes, principalmente microcontaminantes orgánicos, que afectan a la calidad de las aguas receptoras, y que no están incluidos en la regulación actual.

Se estudian 18 efluentes de aguas residuales: 5 urbanos, 8 mixtos y 5 industriales. Se realizó su caracterización físico-química y se valoró la toxicidad aguda del efluente completo con la aplicación de ensayos recomendados en *Whole Efluent Toxicity*. En determinados efluentes se aplicó el procedimiento basado en Valoración por Identificación Toxicológica VIT, para identificar las fracciones tóxicas. En la mayoría de ellos se realizó una valoración de mutagenicidad del extracto orgánico, formando parte de la valoración toxicológica, mediante ensayos agudos, teratogenicidad y estrogenicidad. Con la información existente sobre los compuestos identificados, se realizó la estimación de las Unidades de Toxicidad.

Se muestran datos preliminares de muestras de efluentes evaluadas, donde se valora el efecto mutagénico en el ensayo de *Salmonella typhimurium* empleando las cepas TA100 y TA98. Por otro lado, en 4 efluentes mixtos se detectó efecto estrogénico, y en 3 efluentes industriales capacidad de inducir efectos teratógenos. La fracción orgánica podría ser la responsable mayoritaria de la toxicidad encontrada. El análisis de los compuestos orgánicos muestra la presencia de residuos a concentraciones de ng/L, de diferentes compuestos: surfactantes (nonilfenol y octilfenol), agentes plastificantes (ftalatos, bisfenol A), hormonas esteroides (estradiol) y sintéticas (etinilestradiol), PAHs, ác. grasos, insecticidas (diazinon). Se destaca la ausencia de datos toxicológicos y ambientales para casi el 50% de los compuestos identificados.

Proyecto: REN 2002-04162-C02-02

NOTAS:

GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA ANEMIA DE FANCONI

Callén E., Bogliolo M., Cabré O., Castillo V., Ramírez M. J., Creus A., Marcos R. y Surrallés J.

Grupo de Mutagénesis. Departamento de Genética y de Microbiología. Universidad Autónoma de Barcelona. 08193 Bellaterra

La anemia de Fanconi es una enfermedad hereditaria, que suele manifestarse mediante aplasia medular u otras alteraciones y malformaciones asociadas a ella. Los problemas hematológicos son diversos y presentan además procesos oncológicos, aumentando con la edad la frecuencia de tumores sólidos de estos pacientes. Este alto riesgo de cáncer se debe a defectos en genes involucrados en la reparación de mutaciones y en el mantenimiento de la estabilidad cromosómica.

Se trata de una enfermedad genéticamente heterogénea y compleja, ya que hasta el momento se han descrito 10 genes involucrados en la misma (*FANCA, B, C, D1, D2, E, F, G, I* y *J*), la mayoría de los cuales ya han sido clonados y caracterizados. Aunque se desconoce su función, parece que todos ellos participan en una vía común implicada en la reparación del DNA por recombinación. Varias de las proteínas Fanconi forman un complejo que, junto con BRCA1, se requiere para la activación de la proteína FANCD2 y de forma independiente, FANCD2 es fosforilada por ATM en respuesta a la radiación ionizante e interactúa con NBS1. Así pues, las rutas controladas por los genes *FANC, ATM, NBS1* y *BRCA* convergen en una compleja red supresora del cáncer.

Nuestro papel en este campo se resume en: caracterización genética y cromosómica de los pacientes Fanconi españoles, en colaboración con el Dr. Juan Bueren (CIEMAT), y la Red Nacional de Anemia de Fanconi; constitución y mantenimiento del Biobanco de Síndromes de Reparación del DNA de la UAB; detección de deleciones intragénicas en pacientes Fanconi españoles y caracterización genética de los pacientes Fanconi españoles de etnia gitana (la etnia con mayor incidencia de Fanconi en el mundo); caracterización de una disfunción en el mantenimiento telomérico en pacientes Fanconi; clonaje del gen *dmFANCD2* y caracterización de la conservación funcional de la ruta Fanconi en Drosophila; estudios sobre el papel de la estructura de la cromatina en la ruta FA; caracterización de una nueva función de FANCD2 independiente de recombinación y estudios sobre factores pronóstico de la enfermedad.

NOTAS:

EFECTO DE LA MMC EN LA INESTABILIDAD DE LAS REPETICIONES CTG ASOCIADAS A LA DISTROFIA MIOTÓNICA TIPO 1

Fernàndez L. [1], Piñeiro E. [1], Gámez J. [2], Marcos R. [1], Velázquez A.[1] y Surrallés J.[1]

[1]Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. [2]Departamento de Neurología, Hospital de la Vall d'Hebron, Barcelona

La base molecular de la distrofia miotónica tipo 1 (DM1) consiste en la expansión de las repeticiones CTG del locus DMPK. Los alelos expandidos asociados a la enfermedad son inestables tanto en la línea somática como en la germinal, con una clara tendencia hacia las expansiones. La tasa de expansión está directamente relacionada con el tamaño del alelo expandido y con la edad del individuo. Además se ha sugerido que otros factores adicionales podrían afectar también a la inestabilidad de las expansiones de repeticiones CTG.

Para investigar el efecto de factores ambientales en la inestabilidad de las repeticiones CTG, se establecieron 3 líneas celulares linfoblastoides (LBCL) derivadas de 2 pacientes DM1 y de un individuo normal, y se hicieron cultivos paralelos con y sin mitomicina C (MMC). Utilizando la técnica de la *small pool* PCR (SP-PCR), se analizaron los nuevos alelos que aparecen a lo largo del cultivo. En los alelos de tamaño grande de la línea celular $LBCL_{124/128}$ se observó la presencia de variantes alélicas con una tendencia hacia la expansión, producidas por el mecanismo *step-wise*; esta tendencia se vió incrementada en presencia de MMC. El efecto de la MMC también fue evidente en los alelos de tamaño normal de las líneas celulares $LBCL_{13/13}$ y $LBCL_{69/12}$, donde los cultivos tratados mostraron nuevos alelos dentro del rango normal con una tendencia a las expansiones. Como conclusión, nuestros resultados indican que la MMC incrementa la inestabilidad de las repeticiones CTG expandidas y promueve la expansión de los alelos de tamaño normal.

NOTAS:

NOTAS DE ORIENTACIÓN COMPLEMENTARIAS SOBRE LA LIBERACIÓN INTENCIONAL EN EL MEDIO AMBIENTE DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (OMG).

Parra-Morte, J. M.

Instituto de Salud Carlos III. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Área de Toxicología. Ctra.. Mahadahonda-Pozuelo Km2, 28220 Mahadahonda (Madrid) ESPAÑA.

Dada la problemática del uso o no de los OMG en la elaboración de alimentos, es necesario realizar un plan de seguimiento de su liberación intencional en el medio ambiente. Dicho seguimiento debe estar regulado y actualizado según los avances científicos.

La Directiva 2001/18/CE establece la obligación de que los notificadores lleven a cabo planes de seguimiento para detectar y determinar los efectos directos o indirectos, inmediatos, diferidos o imprevistos, sobre la salud humana o en el medio ambiente de los OMG o los productos que los contengan, una vez comercializados.

Las notas de orientación van dirigidas a:

- Precisar los objetivos del seguimiento
- Pormenorizar los principios generales del mismo
- Determinar un marco general para el establecimiento de unos planes postcomerciales adecuados

Se ha de tener en cuenta la evaluación del riesgo medioambiental, las características modificadas específicas del OMG en cuestión, su uso previsto y el entorno receptor. Los distintos OMG pueden diferir considerablemente según las características inherentes de la especie modificada, de la modificación específica y de las características resultantes.

El diseño de los planes de seguimiento consta de tres partes:

1) Estrategia de seguimiento: determinación de efectos potenciales, enfoque y duración.
2) Metodología de seguimiento: parámetros, muestreo, análisis e inspecciones.
3) Análisis, informes, revisión: la información debe ser pública.

Se debe realizar un buen plan de seguimiento de la liberación intencionada al medio ambiente de los OMG, debido a los posibles riesgos sobre la salud humana y el medio ambiente.

Bibliografía: Directiva 2001/18/CE. Decisión 2002/811/CE.

NOTAS:

GENOTOXICIDAD DE TRATAMIENTOS QUIMIOTERAPÉUTICOS *in vivo* EN PACIENTES CON SARCOMAS ESTIMADA MEDIANTE EL ENSAYO DEL COMETA

Uriol E., Quevedo S., Comendador M., Sierra M., Buesa J. M. y Sierra L. M.

Área de Genética. Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo

Los tumores malignos que se asientan en los tejidos mesenquimales, conectivos o de soporte, se denominan sarcomas. Entre ellos, se encuentran los originados en partes blandas (SPB) como músculo, vasos sanguíneos, tejido adiposo, etc., y los originados en el hueso (SO). En el tratamiento de sarcomas, si éste es de alto grado, la cirugía no es suficiente y se complementa con radioterapia y quimioterapia adyuvante con doxorrubicina (DXR) y/o ifosfamida (IFOS). En este estudio se analiza el efecto de este tratamiento a lo largo del tiempo en linfocitos de sangre periférica, por medio del ensayo del cometa.

Hasta el momento se analizaron 10 pacientes. Los resultados indican una alta variabilidad entre pacientes que han recibido el mismo tipo de tratamiento. Entre los pacientes que han recibido IFOS a altas dosis en infusión continua, observamos que muestran tendencia a que el momento de la cola disminuya a lo largo del tiempo. IFOS, que es un éster de fosforamida mostaza, aunque induce aductos monofuncionales y enlaces cruzados, su acción antitumoral se debe a estos últimos, que serían los responsables de la reducción de la cola del cometa observada. En el caso de los pacientes tratados con IFOS y DXR, y los tratados además con etopósido (VP-16) y ciclofosfamida (CPM), los resultados son más variables, puesto que en algunos hay un incremento del momento de la cola con el tiempo y en otros un descenso. DXR y VP-16, inhibidores de la Topo II, provocan roturas en el ADN, por lo que el efecto global observado se puede deber a los enlaces cruzados inducidos por IFOS y CPM así como a las roturas inducidas por DXR y VP-16. A pesar de que son pocos todavía pacientes analizados, parece existir una correlación negativa entre los valores del momento de la cola y la toxicidad del tratamiento medida como leucopenia y neutropenia. Estos resultados muestran que el ensayo del cometa puede ser una herramienta útil en la biomonitorización durante todo el tiempo de tratamiento de pacientes sometidos a quimioterapia.

NOTAS:

PAPEL DE LOS POLIMORFISMOS EN *GST* Y *NAT* SOBRE LA FRECUENCIA DE MICRONÚCLEOS TANTO BASAL COMO INDUCIDA POR ^{131}I

Hernández A., Xamena N., Gutiérrez S.[1], Velázquez A., Creus A., Surrallés J., Galofré P.[2] y Marcos R.

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra. [1]DNA Repair Group, IARC, Lyon, France. [2]Servei de Medicina Nuclear, Hospitals Universitaris Vall d'Hebron, Barcelona

Los niveles de daño genético, tanto basal como inducido por una determinada exposición, pueden ser modulados por diversos factores genéticos individuales, entre los que destacan la capacidad de metabolización de compuestos xenobióticos. Entre las enzimas metabolizadoras de fase II, que regulan reacciones de conjugación, destacan las reguladas por los genes *GST* y *NAT*, cuyos polimorfismos se han asociado con variaciones en la incidencia de diversos tipos de tumores.

En este trabajo se ha evaluado como los polimorfismos en los genes *GSTM1, GSTP1, GSTT1* y *NAT2* pueden modular los niveles de daño genético, medido como la frecuencia de micronúcleos (MN) en linfocitos de sangre periférica. Para ello, en un grupo de 30 pacientes con cáncer de tiroides, se han evaluado las frecuencias de MN antes y después de la irradiación terapéutica con ^{131}I (promedio de 109,89 ± 1,26 mCi) recibida tras la extirpación total o parcial de la glándula tiroidea.

Los resultados obtenidos indican que ninguno de los polimorfismos genéticos estudiados muestra asociación con los niveles basales de micronúcleos observados. Después del tratamiento terapéutico con ^{131}I, se observa un incremento claramente significativo en la frecuencia de MN en todos los pacientes estudiados, indicando la clara actividad genotóxica del tratamiento con ^{131}I. Esta actividad genotóxica no presenta ningún tipo de asociación con los diversos polimorfismos de *GST* estudiados. Sin embargo, la presencia del fenotipo acetilador lento, y en particular la presencia del alelo *NAT2*7*, muestra una clara asociación con una disminución de la inducción de MN tras el tratamiento, lo que supondría que este genotipo actuaría como un factor de resistencia al tratamiento. Estos resultados se podrían explicar suponiendo que este polimorfismo actuase sinergísticamente con otros polimorfismos genéticos involucrados en la reparación del DNA.

NOTAS:

FRECUENCIAS DE SCE EN TRABAJADORES EXPUESTOS AL ARSÉNICO

Paiva L., Creus A. y Marcos R.

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

El arsénico (As) es un metaloide de origen natural que se sitúa entre los 20 elementos más comunes de la corteza terrestre. Existe en 3 estados de oxidación: elemental (0), trivalente (+3, -3) y pentavalente (+5, -5). En general, se considera que las formas inorgánicas son más tóxicas que las orgánicas, aunque existen divergencias al respecto. Por otro lado, hay un consenso de que las formas trivalentes son más tóxicas que las pentavalentes y que el metabolismo ejerce un papel muy importante en la toxicidad.

En Chile, las características geológicas de la región de Antofagasta y el desarrollo de la actividad minera constituyen importantes fuentes de emisión de As, que interactúan con el medio ambiente y la población, produciendo elevados niveles de exposición.
Estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que el As es cancerígeno en humanos y desde 1987 está clasificado por la IARC (International Agency for Research on Cancer) como agente carcinogénico (grupo I). No obstante, todavía son necesarios más estudios sobre su(s) mecanismo(s) de acción, que no está(n) completamente dilucidado(s).

En este contexto, el presente trabajo tiene como objetivo utilizar el ensayo de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) como indicador del riesgo genotóxico producido por la exposición crónica al As, en una población de trabajadores de una explotación minera chilena de la región de Antofagasta. Se han estudiado un total de 202 individuos (104 expuestos y 98 controles). Para realizar el ensayo de SCE se tomaron muestras de sangre periférica. También se recogieron muestras de orina para determinar los niveles de As y de sus metabolitos (As total; As^{III} ; As^{V} ; monometilarsénico, MMA; dimetilarsénico, DMA).

Los resultados obtenidos indican la existencia de una relación directa entre la ocupación laboral y el nivel de As total en orina. Sin embargo, no se detectan diferencias significativas de la frecuencia de SCE entre los distintos grupos estudiados, ni existe asociación entre los niveles individuales de arsénico y sus valores de SCE.

NOTAS:

EVALUACIÓN DE LA POSIBLE CAPACIDAD GENOTÓXICA DEL FÁRMACO ANTIHIPERTENSIVO β-BLOQUEANTE PROPRANOLOL MEDIANTE EL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS EN LINFOCITOS HUMANOS

Marcos A.[1], Bartoli L.[1,2], Télez M.[1], Ortega B.[1], Peñagarikano O.[1], Montero C.[1], Ortiz E.[3], Flores P.[4] y Arrieta I.[1].

[1]Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco, [2]Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Universitá di Pisa, Italia, [3]Departamento de Especialidades Médico Quirúrgicas, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco, [4]Departamento de Enfermería I, Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad del País Vasco

La hipertensión arterial representa un importante problema para la salud pública en muchos países. Puesto que esta enfermedad requiere un tratamiento farmacológico largo y continuado, los pacientes están sometidos a una exposición ininterrumpida a los fármacos antihipertensivos durante mucho tiempo.

Estudios previos de nuestro equipo testaron la posible capacidad genotóxica de la exposición *in vivo* e *in vitro* al fármaco antihipertensivo β-bloqueante atenolol y a los calcioantagonistas nimodipino y nicardipino mediante los ensayos de anomalías cromosómicas estructurales (CA), 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 obtenidos permitieron determinar la capacidad genotóxica *in vivo* del β-bloqueante atenolol e *in vitro* de los calcioantagonistas nimodipino y nicardipino. Con la base de estos resultados, es lógico y conveniente analizar otros fármacos.

En la actualidad hemos obtenido una muestra de pacientes en tratamiento farmacológico con el antihipertensivo β-bloqueante propranolol y nos encontramos realizando los análisis correspondientes a la evaluación de su posible capacidad genotóxica *in vivo* mediante el ensayo de MN y aplicando también FISH con una sonda centromérica que hibrida con todos los cromosomas humanos. Puesto que aún no hemos concluido dichos análisis, los resultados serán presentados durante las jornadas de la XII Reunión Científica de la Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental.

NOTAS:

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD GENOTOXICA DEL AMLODIPINO

Ortega B.[1], Marcos A.[1], Peñagarikano O.[1], Télez M.[1], Montero C.[1], Ortiz E.[2], Flores P.[3], Criado B.[4] y Arrieta I.[1].

[1]Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco, [2]Departamento de Especialidades Médico Quirúrgicas, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco, [3]Departamento de Enfermería I, Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad del País Vasco, [4]Instituto Portugués de Oncología

El amlodipino es un fármaco ampliamente utilizado en el tratamiento de la hipertensión arterial. Existen dos hechos principales que ponen en evidencia la necesidad de estudiar la posible capacidad genotóxica de los fármacos calcioantagonistas. Por un lado, la hipertensión arterial es una enfermedad muy frecuente en la población, en España se calcula que del 20 al 30% de la población adulta es hipertensa, y requiere un tratamiento farmacológico largo y continuado. Además el uso de fármacos antihipertensivos en España en la última década se ha duplicado, en concreto los calcioantagonistas se han cuadruplicado. Por otro lado, existen una serie de estudios que sugieren un aumento de riesgo de cáncer entre los pacientes tratados con calcioantagonistas.

En este trabajo se analiza la capacidad genotóxica del amlodipino mediante técnicas de citogenética clásica y molecular. Concretamente se ha utilizado el ensayo de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) y la técnica de micronúcleos (MN) con bloqueo de la citocinesis (CBMN) en linfocitos de sangre periférica de pacientes hipertensos en tratamiento con amlodipino. El origen de los MN ha sido determinado mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH) utilizando una sonda centromérica común para todos los cromosomas humanos. Los resultados obtenidos en este estudio no han mostrado diferencias significativas en ninguno de los marcadores estudiados al comparar los pacientes con una muestra control de individuos sanos que no han sido tratados con amlodipino. Estos resultados no sugieren una posible capacidad genotóxica del amlodipino. De igual manera, estudios previos de nuestro laboratorio han obtenido los mismos resultados en otros dos fármacos calcioantagonistas, el nimodipino y el nicardipino.

En conclusión, con los marcadores utilizados, ninguno de los tres calcioantagonistas estudiados, muestra un efecto genotóxico en los linfocitos de pacientes tratados.

NOTAS:

FRECUENCIAS DE MICRONÚCLEOS EN LINFOCITOS DE UNA POBLACIÓN CHILENA AMBIENTALMENTE EXPUESTA AL ARSÉNICO

Martínez V., Creus A., Venegas W.[1], Arroyo A.[2], Surrallés J. y Marcos R.

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra. [1]Departamento de Biología Molecular, Universidad de Concepción, Chile [2]Departamento de Medicina, Universidad de Antofagasta, Chile

La presencia de elevados niveles de arsénico en agua se ha asociado con un incremento en la tasa de diversos tipos de tumores, fundamentalmente de piel, pulmón, vejiga e hígado. Así pues, la exposición a arsénico supone un riesgo genotóxico que se podría estimar utilizando biomarcadores adecuados. Con la finalidad de evaluar este riesgo, se ha seleccionado una población de 116 individuos de la zona de Antofagasta, en el norte de Chile, en la que se han determinado las frecuencias de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica mediante la técnica de bloqueo de la citocinesis usando citocalasina B. Los resultados obtenidos en los distintos lugares de muestreo (San Pedro de Atacama, Peine, Socaire, Toconao y Calama) se han comparado con los de una población control de la ciudad de Concepción, separada de Antofagasta unos 2500 Km, y donde no se ha descrito la presencia de niveles significativos de arsénico en agua. Los niveles ambientales de exposición se valoraron analizando el arsénico presente en muestras de agua, encontrándose valores de hasta 0.750 mg/L en la zona de San Pedro, claramente superiores a los encontrados en la zona control de Concepción (0,002 mg/L). Los niveles citogenéticos globales indican que las diferencias encontradas entre el grupo expuesto y el control no llegan a ser significativas. Igual falta de significación se encuentra cuando el grupo expuesto se divide de acuerdo a la etnia caucásica o atacameña de los participantes en el estudio. Sin embargo, cuando el análisis se realiza utilizando sólo las mujeres (81 en el grupo expuesto y 70 en el control), las mujeres expuestas presentas incrementos significativos en las frecuencias de micronúcleos respecto a las del grupo control. Aunque la diferencia observada entre mujeres expuestas atacameñas y caucásicas no llega a ser significativa, son las mujeres expuestas caucásicas las que muestran mayores valores de células con micronúcleos, valores que son claramente significativos respecto al grupo control. Esto podría indicar una posible adaptación del grupo atacameño como resultado de haber vivido durante muchas generaciones en presencia de altos niveles de arsénico en agua.

NOTAS:

ESTUDIO GENOTOXICO EN UN COLECTIVO DE MUJERES POBLACIONALMENTE EXPUESTAS A EMISIONES INDUSTRIALES AEREAS EN LA VIII REGION. CHILE

Bravo S. y Venegas W.

Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Biología Molecular, Laboratorio de Genotoxicología. Universidad de Concepción. Concepción. Chile.

El sector Hualpencillo (Talcahuano, VIII Región, Chile) es un territorio de uso compartido entre actividades industriales de distinta naturaleza y poblamiento urbano, que ha recibido fuertes cargas de contaminación industrial aérea por tres décadas. Debido a esto, se ha desarrollado la hipótesis de que sus habitantes están expuestos a riesgo genotóxico.

Para realizar un estudio de biomonitorización genética humana se seleccionó la población Esfuerzo Unido del sector de Hualpencillo, la cual fue caracterizada sociológicamente a través de un censo que permitió establecer los criterios de selección del grupo muestral y contactar a los donadores. Para la obtención del consentimiento informado de participación de éstos se realizó un taller, el cual fue diseñado considerando el nivel educacional de las personas seleccionadas.

Se llevó a cabo el ensayo de micronúcleo con citocinesis bloqueada en linfocitos de sangre periférica sobre un total de 60 mujeres de las cuales 30 representaron al colectivo en condiciones de exposición poblacional crónica a contaminación industrial aérea, mientras que otras 30 restantes conformaron el grupo control, representando el nivel común de exposición a agentes químicos ambientales. Previo a la realización del ensayo se aplicó sobre el total de donadores un cuestionario destinado a eliminar factores de confusión que pudiesen incidir en las variables citogenéticas.

Los resultados encontrados indican que el grupo de mujeres expuestas presenta frecuencias más altas de células bionucleadas con micronúcleo (BNMN) y de micronúcleos totales que el grupo control, con una diferencia altamente significativa desde el punto de vista estadístico. De este modo, este estudio demuestra la presencia de agentes genotóxicos en el ambiente de la localidad estudiada y un riesgo genético asociado a la exposición de los colectivos que habitan en ella.

Como conclusión, planteamos la urgente necesidad de realizar estudios de profundización sobre estas poblaciones, debido a que el aumento en la tasa de mutaciones de una población, implica el riesgo de un incremento a futuro en las tasas de incidencia de carcinogénesis y teratogénesis como consecuencias más dramáticas.

NOTAS:

ESTUDIO DEL EFECTO GENOTOXICO DE PESTICIDAS EN MUJERES TEMPORERAS DE LA VIII REGION, CHILE

Márquez C., García M. A., Venegas W. y Duk S.

[1] Laboratorio de Citogenética y Genética Toxicológica, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Biología Molecular, Universidad de Concepción. Concepción, Chile.

El incremento del uso de plaguicidas en Chile en las últimas décadas, tiene como consecuencia un aumento importante en la productividad agrícola, pero al mismo tiempo un fuerte impacto en la salud de la población. En Chile hay pocos trabajos de investigación con respecto al efecto de los plaguicidas en el medio ambiente y la salud de los trabajadores.

Este estudio se llevó a cabo mediante la técnica de Micronúcleos (MN), en una población de 94 mujeres trabajadoras de la VIII Región, Chile. De las 94 mujeres estudiadas, 64 son temporeras que trabajan en contacto con mezclas de pesticidas y 30 corresponden a mujeres que viven en la ciudad de Concepción y que no están expuestas a estos agentes químicos, consideradas como grupo control.

Los resultados muestran diferencias estadísticamente significativas en el promedio de células con MN al comparar ambas poblaciones. ($p<0.001$). Los valores promedio para los sujetos expuestos corresponden a 36.9 ± 14.5 MN por mil células binucleadas, en cambio los controles presentan un promedio de 9.9 ± 6.2 MN por mil. Esto nos lleva a afirmar que existe riesgo de daño genético en poblaciones expuestas a pesticidas dentro de la VIII región.

Financiado por proyecto DIUC- (201.031.089-01) Universidad de Concepción

NOTAS:

FRECUENCIAS DE MICRONÚCLEOS EN LINFOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA DE INDIVIDUOS INFECTADOS POR *Helicobacter pylori.*

Suárez S.[1], Sueiro R. A.[1], Garrido J.[1], Pardiñas M. C.[2], Menéndez M. D.[3] y Álvarez A.[3,4]

[1]Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigación e Análises Alimentarias, Universidade de Santiago de Compostela (USC). [2]Servicio de Vixilancia da Saúde, USC. [3]Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela. [4]Departamento de Medicina, Facultade de Medicina, USC.

Estudios epidemiológicos han identificado un número elevado de factores de riesgo para el cáncer gástrico, el tercero en incidencia en España. De entre éstos, son destacables las dietas con alto contenido de alimentos salados y en escabeche, las dietas con bajo contenido en vitaminas antioxidantes y la infección por *H. pylori*. En 1994 y tras la evaluación de datos epidemiológicos e histológicos, *H.pylori* fue clasificado por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) como **Cancerígeno Tipo I** para los seres humanos.

Para explicar la relación entre *H. pylori* y las neoplasias, se han propuesto varias hipótesis. Una de ellas, relacionaría la bacteria con el adenocarcinoma gástrico por su capacidad para desencadenar una gastritis crónica atrófica que se considera una lesión premaligna. Otra hipótesis sugiere el papel carcinogénico directo *H.pylori*, relacionándolo con distinto potencial en función de las distintas cepas. Esta distinta "peligrosidad" se podría relacionar algunos factores bacterianos como por ejemplo la proteína asociada a la citotoxicidad. Otras hipótesis ponen énfasis en el sistema inmunitario del hospedador, genes metabolizadores de xenobióticos (glutación-S-transferasas), etc...

Probablemente, no hay una única causa que induzca la formación de cáncer gástrico, y es la interacción de alguno de los sucesos descritos anteriormente y de otros, que provoque la formación del cáncer. A pesar de todas las teorías postuladas, hay muy pocos estudios que intenten encontrar la relación causal directa entre la infección y la aparición de cáncer gástrico. Solamente hay un trabajo que muestra la capacidad de inducción de lesiones en el DNA *in vitro* a partir de un lisado de la bacteria. Así pues, y teniendo en cuenta, la relación entre mutación somática y cáncer, nos hemos planteado este estudio analizando el nivel de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica, en una población de individuos infectados. Los primeros resultados de unos 25 individuos infectados muestran un aumento de las células binucleadas con MN en dichos individuos respecto de la población control HP-.

NOTAS:

MUTAGENICIDAD DE STREPTOZOTOCINA EN CÉLULAS GERMINALES FEMENINAS DE *Drosophila melanogaster*: INFLUENCIA DEL SISTEMA DE TOLERANCIA POR BYPASS DEL DAÑO BTM

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

Área de Genética. Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo.

Streptozotocina (STZ) es un agente antitumoral de la familia de las alquilnitrosoureas, utilizado en el tratamiento de distintos tipos de tumores. Como la mayoría de los agentes antitumorales es genotóxico aunque existe poca información sobre la relevancia mutagénica de los distintos tipos de lesiones que induce en el DNA, y menos aún, sobre cómo los distintos sistemas de reparación del DNA eliminan esas lesiones.

Por estas razones, se ha analizado su mutagenicidad *in vivo* en células germinales premeióticas de *D. melanogaster*, estudiando también la influencia en dicha mutagenicidad de un sistema de tolerancia por bypass del daño (BTM) . Para llevar a cabo estos estudios se ha utilizado el test de letales recesivos ligados al sexo, acoplado al sistema vermilion, tratando hembras.
Los resultados obtenidos demuestran que STZ es mutagénico en estas células, tanto en oocitos como en oogonias, y que la sensibilidad relativa de los distintos tipos de células depende de la dosis aplicada. Además, estos resultados demuestran que STZ es un potente mutágeno en oogonias, al menos con la dosis de 15 mM, en células eficientes en reparación.
Por otro lado, respecto a la influencia del sistema BTM, la comparación de los resultados obtenidos en las dos condiciones de reparación, mediante el cálculo de índices de mutabilidad, revela que BTM participa en la reparación o procesamiento de los daños inducidos por este compuesto.

Por último, se dispone de varios mutantes *vermilion* inducidos por este compuesto y, aunque todavía son pocos para constituir un espectro, se puede adelantar que STZ induce tanto cambios de base como deleciones.

Estos resultados demuestran la mutagenicidad de STZ en células premeióticas de eucariotas superiores y confirman la utilidad de las células germinales femeninas de *Drosophila* en estudios de Mutagénesis, y de reparación del DNA.

NOTAS:

INFLUENCIA DEL SISTEMA DE TOLERANCIA MEDIADA POR BYPASS (BTM) EN LA RECOMBINACIÓN MEIÓTICA DE *Drosophila melanogaster*

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

Área de Genética. Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. c/Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo.

Muchos aspectos de los procesos meióticos de la oogénesis son comunes en Drosophila y el hombre. Debido a la importancia de los procesos recombinacionales en la salud humana y a los escasos estudios realizados sobre recombinación meiótica, en este trabajo se han utilizado hembras de *Drosophila melanogaster* para estudiar los efectos de tres mutágenos/carcinógenos con distintos mecanismos de acción, dietilsulfato (DES), N-etil-N-nitrosourea (ENU) y hexametilfosforamida (HMPA), sobre la frecuencia de recombinación en el cromosoma X utilizando cinco marcadores distribuidos a lo largo del mismo. El diseño experimental utilizado permite comprobar los efectos de los tres compuestos sobre la frecuencia de recombinación en el cromosoma X mediante el análisis de tétradas descrito por Weinstein (1936) y determinar si las distribuciones de las frecuencias detectadas en individuos tratados y control difieren. En general se encontró que, el tratamiento con los compuestos altera la distribución de las tétradas respecto al control.

Puesto que se desconocen los mecanismos moleculares a través de los cuáles estos compuestos pueden afectar a los procesos meióticos, resulta interesante estudiar si el efecto de estos compuestos difiere en distintas condiciones de reparación del ADN, en especial para aquellos sistemas que se han relacionado con la recombinación.

El locus *mus308* de Drosophila participa en un sistema de reparación cuya función, aún no del todo clara, parece relacionada con una tolerancia mediada por bypass del daño (BTM) en la que puede participar la recombinación. Se ha encontrado un estrecho paralelismo entre los mutantes *mus308* y el fenotipo de la anemia de Fanconi (FA), una enfermedad congénita humana. Estudios recientes implican a las proteínas FA en el proceso de reparación por recombinación homóloga.

El descubrimiento de variaciones significativas en la respuesta en células tratadas y control, al menos con DES y ENU, en condiciones BTM$^-$ con respecto a condiciones normales, indica claramente que en la reparación de los daños inducidos en el ADN participan elementos relacionados con la recombinación homóloga, así como que en el sistema BTM participan mecanismos que podrían ser comunes a los procesos meióticos y de reparación del ADN.

NOTAS:

EFECTO ESPECÍFICO DE TEJIDO EJERCIDO POR UN ELEMENTO FB-NOF SOBRE LA INTERACCIÓN *zeste-white* DE *Drosophila melanogaster*

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

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Las cepas mutantes de *Drosophila melanogaster* M63 y M115, al igual que la w^{+UZ} usada como sistema genético en el ensayo de mutagénesis UZ, presentan un elemento FB-NOF insertado en las proximidades del extremo 3' del gen *white*. El color claro de ojos de estos mutantes es el resultado de la interacción de *zeste* (todos son portadores del alelo mutante z^1) con *white*. Los resultados del análisis molecular de los individuos revertientes (RM63, RM115 y w^{+UR}) muestran que dicha reversión va asociada a la escisión de NOF, manteniéndose parte de las secuencias de FB en el punto de inserción original.

Con el objetivo de determinar cuales son los cambios de expresión del locus *white* en estas cepas, hemos cuantificado el mRNA de dicho gen en cada una de ellas mediante PCR a tiempo real con un termociclador *LightCycler*™, utilizando pares de cebadores específicos y detectando la señal fluorescente producida por el SYBR® Green. El gen de la actina fue usado como control de expresión constitutiva. Los datos obtenidos se han comparado con los de una cepa salvaje, Canton-S (CS) y otra mutante *zeste-1* (z^1), usadas como cepas de referencia.

Si asignamos un valor de expresión del gen *white* del 100% al obtenido en la cepa CS, podemos decir que la cepa z^1 expresa únicamente alrededor de un 10%, tanto en machos como en hembras; las cepas mutantes M63 y M115, aproximadamente un 350%, mientras que las cepas revertientes RM63 y RM115 expresan alrededor de un 10%, al igual que la cepa z^1.

Aunque los resultados obtenidos resultan aparentemente sorprendentes, debemos tener en cuenta que el gen *white* no se expresa exclusivamente en los ojos, sino también en testículos y túbulos de Malpigi. Diseccionando ejemplares macho de las diferentes cepas, hemos observado que la coloración de los testículos y de los túbulos de Malpigi, explica claramente el porqué de nuestros resultados. Así, el FB-NOF inserto cercano al extremo en 3' de *white*, no afecta por igual a todos los tejidos, dependiendo su acción del *enhancer* utilizado en cada caso.

NOTAS:

ESTUDIO MOLECULAR Y BIOINFORMÁTICO DEL ELEMENTO FB-NOF DE *Drosophila melanogaster*

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

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Desde su descubrimiento, el elemento transponible *foldback* (FB) de *Drosophila melanogaster* ha despertado el interés de numerosos investigadores, aunque su estudio ha dejado detrás de sí mayor cantidad de interrogantes sin resolver que respuestas a las preguntas planteadas: incluso los detalles más elementales de su biología nos son, aún, completamente desconocidos. Aún así, FB es un tipo de elemento que se encuentra frecuentemente asociado a reordenaciones cromosómicas y a algunas mutaciones insercionales.

La estructura altamente repetitiva de los FB, organizada en dos grandes repeticiones invertidas (IR), de tamaño variable e independiente una de otra, formadas por un número no definido de bloques o módulos, a su vez constituidos por cortas repeticiones directas, hace de éstos unos elementos particularmente difíciles de estudiar.

En este trabajo presentamos la secuencia completa y fiable de un elemento FB presente en una de nuestras cepas mutantes (M115), obtenida a partir de la elaboración de clones solapados y ordenados mediante la reacción de la exonucleasa *Bal*31. Asimismo, el uso de técnicas bioinformáticas nos ha permitido comparar el elemento secuenciado con los distintos elementos FB presentes en los datos derivados de la secuenciación del genoma de *Drosophila melanogaster*, así como determinar la distribución cromosómica de los mismos.

Los resultados de este estudio se suman a un esfuerzo por comprender la naturaleza del elemento FB-NOF y el modo en que interacciona con el genoma de *Drosophila melanogaster*.

NOTAS:

PAPEL DEL FACTOR DE REPLICACIÓN PCNA EN LA ESTABILIDAD GENÓMICA DE *D. melanogaster*: ANÁLISIS DE *FINGERPRINTS* DE DNA Y DE *loci* MICROSATÉLITE

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

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

El antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) es un factor, muy conservado evolutivamente, implicado en múltiples procesos del metabolismo del DNA en distintos organismos, siendo esencial en la replicación, pero interviniendo, también, en varios aspectos de la reparación, debido a su capacidad para interaccionar con otras proteínas. Los estudios realizados con mutantes *Pcna* de *Drosophila* (*mus209*) muestran la implicación de este factor en el desarrollo embrionario, en la reparación de roturas de doble cadena (DSBR), así como en procesos de remodelación de la cromatina.

En este trabajo mostramos, utilizando la técnica de *fingerprinting*, AP-PCR, y la amplificación por PCR de *loci* microsatélite, que el alelo $mus209^{B1}$ presenta un fenotipo mutador, que se manifiesta como la acumulación de alteraciones genéticas a lo largo de las generaciones. Así, tanto las líneas homocigotas para la mutación ($Pcna^{-/-}$), como las heterocigotas ($Pcna^{+/-}$), exhiben un progresivo aumento de la inestabilidad genómica. En ambos casos, la acumulación de alteraciones es significativa, respecto de los valores de inestabilidad obtenidos en las líneas control ($Pcna^{+/+}$). El análisis de inestabilidad en secuencias microsatélite (MSI) a lo largo de las generaciones, también indica que PCNA interviene en la estabilidad de este tipo de secuencias. Estos resultados muestran, por lo tanto, que la proteína PCNA juega un papel importante en la estabilidad genómica en *Drosophila*.

NOTAS:

ACTIVIDAD DEL CADMIO FRENTE A LA GENOTOXICIDAD DEL DICROMATO POTÁSICO Y DEL ETILMETANOSULFONATO. ESTUDIO CON EL TEST *SMART* EN ALAS *DE Drosophila*

Rizki M.[1,2], Kossatz E.[1], Creus A.[1], Xamena N.[1], Marcos R.[1,2]

[1]Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. [2]Institut de Ciència i Tecnologia Ambientals (ICTA), Edifici Cn, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

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 cloruro de cadmio (CC). 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^3)*, en células de los discos imaginales de las larvas, puede conducir a la formación de clones de células mutantes, que se expresan en las alas de las moscas adultas. Se ha investigado también la actividad moduladora del CC frente a la genotoxicidad inducida por el dicromato potásico (DP) y el etilmetanosulfonato (EMS); para ello se han utilizado tres protocolos distintos: pre-tratamiento, co-tratamiento y post-tratamiento, con el fin de comparar los efectos.

Los resultados obtenidos indican que el CC no incrementa la frecuencia de ninguno de los tres tipos de clones mutantes evaluados (pequeños, grandes y dobles), por lo que este compuesto no produce efectos genotóxicos detectables mediante el ensayo *SMART* en alas. Los resultados del co-tratamiento indican que el CC aumenta la genotoxicidad inducida por el DP; sin embargo, no modifica la genotoxicidad inducida por el EMS. En el post-tratamiento, los resultados indican que el CC no modifica la genotoxicidad inducida por el DP, pero aumenta la genotoxicidad inducida por el EMS. En los pre-tratamientos no se ha observado ningún efecto del CC, debido posiblemente a la alta toxicidad observada en este tipo de tratamiento.

Con respecto a los posibles mecanismos implicados en la acción co-genotóxica del CC, nuestros resultados sugieren que el CC necesita de las especies reactivas de oxígeno (ROS) para causar daño genotóxico. Así pues, el ensayo *SMART* en células de las alas de *D. melanogaster* ha demostrado ser un buen método de ensayo no sólo para la evaluación de la actividad genotóxica, sino también para investigar *in vivo* los posibles mecanismos de acción.

NOTAS:

MECANISMO DE FORMACIÓN DE C-NITROSOCOMPUESTOS GENOTÓXICOS A PARTIR DE ANTIOXIDANTES HIDROQUINÓNICOS Y NITRITO SÓDICO

Ruano E., Matesanz R., Jiménez L., Martín A. y González-Mancebo S.

Facultad de CC. Biológicas. Universidad SEK. 40003 – Segovia (España)

Los nitrosocompuestos son motivo de preocupación en la sociedad científica actual debido a la facilidad con la que se pueden formar endógenamente nitrosocompuestos muy reactivos a partir de precursores contenidos en los alimentos, medicamentos, cosméticos y biocidas (Donald, 1994).

En este trabajo se ha estudiado el mecanismo de formación de C-nitrosocompuestos a partir de la combinación de antioxidantes hidroquinónicos, butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT), con nitrito sódico, todos ellos utilizados asiduamente como conservantes en la industria alimenticia. Así, hemos demostrado que el mecanismo de formación de estos C-nitrosocompuestos transcurre mediante un ataque elctrofílico del grupo NO+ sobre el antioxidante hidroquinónico. Se ha comprobado que el mecanismo transcurre con una etapa lenta que es una transferencia protónica.

Por otro lado, se ha probado el carácter genotóxico de los nitrosocompuestos obtenidos, nitrosobutilhidroxianisol (NBHA) y nitrosobutilhidroxitolueno (NBHT), mediante un test de mutagenicidad, test de Ames.

Finalmente, con ánimo de entender el mecanismo de inhibición, se ha investigado la influencia de varios compuestos que podrían actuar como posibles inhibidores de la reacción de nitrosación, α-ciclodextrina, β-ciclodextrina, ácido paraaminobenzoico, ácido ascórbico y acetonitrilo. Los resultados concluyen que los compuestos formados tiene una respuesta positiva en el test de mutagenicidad y que los compuestos utilizados para inhibir la formación de los mismos son efectivos, a excepción de la α- ciclodextrina.

Referencias:

- Donald, C.H.; Chou, J. H. *ACS symposium series, American Chemical Society,* Washington. 1994

NOTAS:

ESTUDIO DEL EFECTO PROTECTOR DE DISTINTOS VINOS DE LA PROVINCIA DE SEGOVIA FRENTE A LA GENOTOXICIDAD CAUSADA POR *N*-NITROSOPIRROLIDINA

Bartolomé F., Jiménez J. J., Matesanz R., Castán P., Martín A. y González-Mancebo S.

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad SEK

C/ Cardenal Zuñiga, 12. 40003-Segovia (España)

En este estudio se ha analizado el efecto protector de cuatro vinos de la provincia de Segovia frente a la genotoxicidad causada por un mutágeno conocido, *N*-nitrosopirrolidina (Guttenplan, 1987). El test de mutagenicidad utilizado ha sido el SOS Chromotest.

Los vinos seleccionados han sido:

- tinto joven 2002 y tinto con crianza 2001 (Bodegas Agejas. Cabañas de Polendos. Segovia).
- tinto joven 2000 y tinto con crianza 2001 (Bodegas Viñedos de Nieva. Nieva. Segovia).

En primer lugar, se separaron las muestras de vino tinto en cuatro fracciones mediante HPLC[1,2]: F1, Ácido Gálico. F2, Polifenoles de bajo peso molecular. F3, Polifenoles de alto peso molecular y taninos. F4, etanol.

Además, se ha analizado el potencial genotóxico de la *N*-nitrosopirrolidina mediante la prueba cualitativa y cuantitativa del SOS Chromotest. Se ha cuantificado el valor genotóxico de la nitrosamina estudiada mediante el cálculo del valor del SOSIP.

Por último, se ha evaluado la influencia de las cuatro fracciones sobre el valor del SOSIP, observando una disminución en el efecto genotóxico del nitrosocompuesto.

1. Estación Enológica de Castilla y León. Rueda. Valladolid.
2. Departamento de Bromatología. Universidad de Burgos.

Referencias:

Guttenplan J. B., (1984). In: H. Bartsch, I. O'Neill and R. Schulte, Eds, The Relevance of N-Nitroso Compounds to Human Cancer. Exposures and Mechanism. IARC Nº 84, Lyon (France), pp 129-131

NOTAS:

ESTUDIO *in vitro* DEL EFECTO CITOTÓXICO DEL NITROSOFENOL SOBRE CÉLULAS EPITELIALES DE RATA. EFECTO BENEFICIOSO DE LA VITAMINA C.

Jiménez L., Matesanz R. D., Ruano E., González-Mancebo S., Diago M. L., Fernández M. y Martín A.

Dpto. de Biología Celular, Molecular y Ciencias del Medio Ambiente. Facultad de Biología. Universidad S.E.K. de Segovia.

Se estudió el efecto provocado por concentraciones crecientes de nitrosofenol (NPHE) sobre cultivos de células epiteliales tubulares proximales de rata (línea celular NRK-52), midiendo la citotoxicidad mediante el método colorimétrico del MTT. Los células se mantuvieron a 2 y 24 horas con el tratamiento. Los resultados obtenidos manifiestan un efecto citotóxico a 2 h de incubación con el NPHE, afectando por un lado, al porcentaje de proliferación celular que se ve reducido considerablemente con respecto a las células control. Por otro lado, la morfología típica de esta línea celular se observa alterada, ya que las células se redondean y pierden contactos entre ellas, desapareciendo la monocapa que es típica de esta línea celular. Los efectos son mas pronunciados tras 24 h de tratamiento. Además, se ha estudiado, mediante inmunohistoquímica, los cambios inducidos por el NPHE en el patrón de expresión de moléculas de adhesión conexina-43 y CD44 y de la molécula supresora de tumores p53, en las células mencionadas. De este modo, mientras que conexina-43 y CD-44 aumenta su patrón de marcaje frente a los niveles expresados por células sin tratar, la molécula p53 muestra una reducción muy notable tras la incubación con NPHE.

Por otro lado, se han probado diferentes sustancias para impedir el efecto citotóxico del NPHE, concretamente: ácido ascórbico o vitamina C (AA), α-tocoferol o vitamina E, α- y β-ciclodextrinas y ácido para-aminobenzóico (PABA). De todas ellas, el AA es el único beneficioso, observándose tres tipos de efectos sobre el efecto citotóxico producido por la incubación de NPHE a 2 horas: 1) un efecto inhibitorio (por incubar el AA antes que el NPHE); 2) un efecto bloqueante (por incubar AA junto con NPHE) y 3) un efecto terapéutico (por incubar AA después de incubar el NPHE). El efecto beneficioso del AA, se demostró tanto a nivel de proliferación celular como en la morfología celular. También, se ha observado recuperación de los patrones de expresión normales de las moléculas estudiadas .

NOTAS:

ANTIMUTAGENICIDAD DEL RESVERATROL, COMPUESTO NATURAL PRESENTE EN ALIMENTOS

Barea M., García O., Pollastrini M.T., Pérez M.L., Escaso M. y Sanz F.

Servicio de Toxicología Alimentaria. Centro Nacional de Alimentación. Agencia de Seguridad Alimentaria.

El resveratrol es una fitoalexina, uno de los compuestos polifenólicos naturales más importantes presente en uvas, fresas, albaricoques, ciruelas y cacahuetes, entre otros. Los vinos son también ricos en polifenoles, especialmente en trasns-resveratrol. La acción fisiológica del resveratrol como antioxidante y antirradical además de sus efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos inducen a considerarlo como posible agente quimiopreventivo del cáncer. En este trabajo se estudia "in vitro" el efecto antimutagénico del trans-resveratrol frente a sustancias mutagénicas reconocidas como son el ICR 191 (6-chloro-9-[3-(2-chloroethylamino)propylamino]-2-methoxyacridine) y el 2-nitrofluoreno en un ensayo bacteriano de mutación inversa con *Salmonella typhimurium*. Este ensayo se lleva a cabo basándose en la Directiva Oficial de las Comunidades Europeas L 136/57 anexo 4 D Cap. B 13/14 (2000). Se han seleccionado las cepas de *Salmonella typhimurium* TA 1537, TA 97a y TA 98, cepas sensibles a los mutágenos que provocan desplazamiento de la lectura de ADN por adición/delección de pares de bases. Diferentes dosis de los mutágenos (ICR 191, 2-nitrofluoreno) se estudian frente a tres dosis de resveratrol (500 μg/placa, 250 μg/placa, 125 μg/placa). El efecto antimutagénico se valora mediante la disminución que existe entre el número de revertantes/placa inducidas por la mezcla mutágeno/antimutágeno frente a las inducidas por el compuesto mutagénico solo. En las cepas TA 1537 y TA 97a se observa un aumento del porcentaje de inhibición de revertantes /placa relacionado con un incremento en las concentraciones de resveratrol para el ICR 191. Asimismo, en la cepa TA 98, se muestra igualmente una relación directa entre el aumento de las concentraciones de resveratrol y el porcentaje de inhibición para el 2-nitrofluoreno. Estos resultados nos llevan a la conclusión que el resveratrol, en sus concentraciones más altas, presenta una clara actividad antimutagénica.

NOTAS:

EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN Y REMODELAMIENTO DE CROMATINA CBF1P AFECTA PRINCIPALMENTE A LA REPARACIÓN POR ESCISIÓN DE NUCLEÓTIDOS EN EL NÚCLEO DEL NUCLEOSOMA

Ferreiro[1,2] J.A, Powell[1] N.G., Karabetsou[3] N., Mellor[3] J. y Waters[4] R.

1) School of Biological Sciences, University of Wales Swansea, Swansea SA2 8PP, UK. 2) Present Address: Area de Genética. Dpto Biología Funcional e Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (IUOPA). University of Oviedo. 33006 Oviedo. Spain. *3) Microbiology Unit, Department of Biochemistry, Oxford University, Oxford OX1 3QU, UK. 4) Department of Pathology, University of Wales College of Medicine, Cardiff CF14 4XN, UK.*

La eficiencia del sistema de reparación por escisión de nucleótidos (NER) no es homogénea a lo largo del genoma. Esta heterogeneidad es debida, al menos en parte, a la reparación preferencial de los daños producidos en la hebra transcrita de genes activamente transcritos, así como a la posición en que ocurre la lesión en relación a la estructura de la cromatina. Gracias a su asociación con proteínas, el genoma de los organismos eucariotas se encuentra enrollado sobre sí mismo en nucleosomas y estructuras de cromatina de orden superior. Esta compactación disminuye la accesibilidad al ADN de los enzimas celulares, lo que altera la actividad de diversos procesos celulares como transcripción, replicación o reparación. Entre las diferentes proteínas que regulan en *Saccharomyces cervisiae* la accesibilidad al ADN en cromatina se encuentra el denominado "chromatin binding factor 1" (Cbf1p). La proteína Cbf1 se une de manera específica a la secuencia CDE1 que se encuentra tanto en los centrómeros de Saccharomyces, como en múltiples promotores, incluidos los de la mayoría de los genes involucrados en la síntesis de metionina (*MET16*, *MET17*, etc). En este trabajo hemos examinado la estructura de la cromatina, el nivel de transcripción y la tasa de reparación de daños inducidos por la luz UV en el gen *MET16* de células de *S. cerevisiae*, tanto silvestres como deficientes para el gen *CBF1*, en condiciones que activan o reprimen su transcripción.

Independientemente de la tasa de transcripción, la tasa de reparación muestra periodicidad con la posición de los nucleosomas en la región reguladora de ambas hebras de *MET16*, así como en la región codificante de la hebra no transcrita. La tasa de reparación en la región codificante de la cadena transcrita es siempre más eficiente, pero sólo muestra periocidad con la posición del nucleosoma cuando la transcripción de *MET16* está reprimida. La ausencia de la proteína Cbf1p produce una disminución de la eficiencia de la reparación, aunque de manera no homogénea, siendo el efecto más marcado en el área remodelada por Cbf1p. En condiciones que activan la transcripción de *MET16*, la ausencia de Cbf1p reduce la eficiencia de la reparación principalmente en las regiones correspondientes al núcleo del nucleosoma.

Nuestros resultados confirman la importancia de Cbf1p tanto para la transcripción como para la estructura de la cromatina en *MET16*. Además, se observa que la tasa de reparación de dímeros de pirimidina en *MET16* es más dependiente de la estructura de la cromatina que del nivel de transcripción del gen.

NOTAS:

PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ATPOLK, UNA ADN POLIMERASA DE *Arabidopsis thaliana* QUE PARTICIPA EN LA REPLICACIÓN DE ADN DAÑADO

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

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. Edificio Mendel. 14071-Córdoba.

La mayor parte de las células pueden replicar su ADN aunque contenga lesiones, empleando para ello diversas ADN polimerasas especializadas. Todas estas enzimas, capaces de replicar moldes dañados con distintos grados de fidelidad, están estructuralmente relacionadas entre sí y constituyen una superfamilia representada por las proteínas UmuC y DinB de *Escherichia coli*, y Rad30 y Rev1 de *Saccharomyces cerevisiae*. 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 homólogo vegetal de DinB y se expresa en un amplio rango de tejidos en la planta, incluyendo hojas, tallo, raíces y flores. La introducción del gen *AtPOLK* en células de *E. coli* incrementa significativamente la 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 3´. Tras sobreexpresar y purificar el producto del gen *ATPOLK*, hemos comprobado que posee una clara actividad ADN polimerasa *in vitro*. La proteína ATPOLK inserta nucleótidos en una secuencia dependiente de la cadena molde, y carece de actividad correctora exonucleasa 3´-5´. Además, es capaz de extender tanto cebadores correctamente apareados como cebadores incorrectamente apareados en su extremo 3´. La secuencia de aminoácidos de ATPOLK presenta 5 dominios altamente conservados en la subfamilia DinB y, al igual que otros homólogos eucarióticos, posee una región C-terminal adicional ausente en las enzimas bacterianas. En ATPOLK dicha región contiene un dominio de "dedos de zinc" (C_2H_2), y su eliminación incrementa la actividad ADN polimerasa de la enzima y su procesividad. Nuestro siguiente objetivo es caracterizar *in vivo* el papel fisiológico de ATPOLK. Como primer paso, hemos obtenido plantas que muestran (a) una sobreexpresión del gen y (b) un silenciamiento del mismo; disponemos también de plantas con una fusión del promotor de *ATPOLK* al gen reportero GUS. El análisis detallado de estas plantas permitirá determinar las funciones de ATPOLK durante el proceso de mutagénesis y la respuesta a estrés genotóxico en *Arabidopsis*.

NOTAS:

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA FAMILIA DE ADN GLICOSILASAS IMPLICADAS EN PROCESOS DE REGULACIÓN GÉNICA EN PLANTAS

Morales-Ruiz T., Ortega-Galisteo A. P., Salinas M., Ariza R. R. y Roldán-Arjona T.

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. Edificio Mendel. 14071-Córdoba.

La reparación de ADN por excisión de bases se inicia con la acción de ADN glicosilasas, enzimas monoméricas de pequeño tamaño (200-400 aminoácidos) que eliminan lesiones causadas por subproductos del metabolismo o por diversos agentes genotóxicos medioambientales. Empleando técnicas de análisis genómico en la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, nuestro grupo ha identificado dos genes (*ROS1* y *DME*) que definen un nuevo tipo de ADN glicosilasas. Las proteínas codificadas por *ROS1* y *DME* constan de 1987 y 1365 aminoácidos, respectivamente, y presentan en su región C-terminal un dominio (de aproximadamente 240 aminoácidos) que muestra una alta similitud de secuencia con ADN glicosilasas pertenecientes a la superfamilia HhH-GPD. Una busqueda intensiva en las bases de datos ha permitido identificar secuencias parciales de ADNc (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. Los ADNc correspondientes a *ROS1* y *DME* se han clonado en vectores de expresión apropiados y las proteínas correspondientes se han sobreexpresado y purificado en bacterias. Su caracterización bioquímica ha revelado que se trata de enzimas con una actividad dual, capaces de actuar como ADN glicosilasas/liasas tanto sobre lesiones de tipo oxidativo, como sobre ADN que contiene 5-metilcitosina. Mutaciones en el gen ROS1 causan el silenciamiento transcripcional de transgenes y genes homólogos endógenos, y el análisis de los niveles de metilación de los promotores de los genes silenciados revela que éstos se encuentran hipermetilados. Plantas transgénicas deficientes en *ROS1* o *DME* muestran graves alteraciones en el desarrollo que incluyen frutos más pequeños y con menos semillas, alta proporción de semillas abortivas, hojas estrechas y estructura aberrante de la flor. Además, estos defectos se acumulan durante las sucesivas generaciones. Estos resultados sugieren que las proteínas ROS1 y DME juegan un papel importante en fenómenos de regulación génica, probablemente mediante el control de los niveles de metilación del ADN. Hemos identificado un homólogo de ROS1/DME en el musgo *Physcomitrella patens*. Los musgos, uno de los grupos más primitivos de plantas terrestres, se originaron hace unos 500 millones de años. Así pues, es probable que la familia de ADN glicosilasas representada por ROS1 y DME tenga un origen evolutivo temprano y desempeñe funciones esenciales en las células vegetales.

NOTAS:

CONTROL DE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES QUE CODIFICAN DOS POLIMERASAS DE SÍNTESIS TRANSLESIÓN EN *Arabidopsis thaliana*

Santiago M.J., Luque-Santamaría A., Roldán-Arjona T., Ariza R.R., Ruiz-Rubio M. y Alejandre E.

Dpto. de Genética , Facultad de Ciencias, Campus de Rabanales, Edificio Mendel, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba

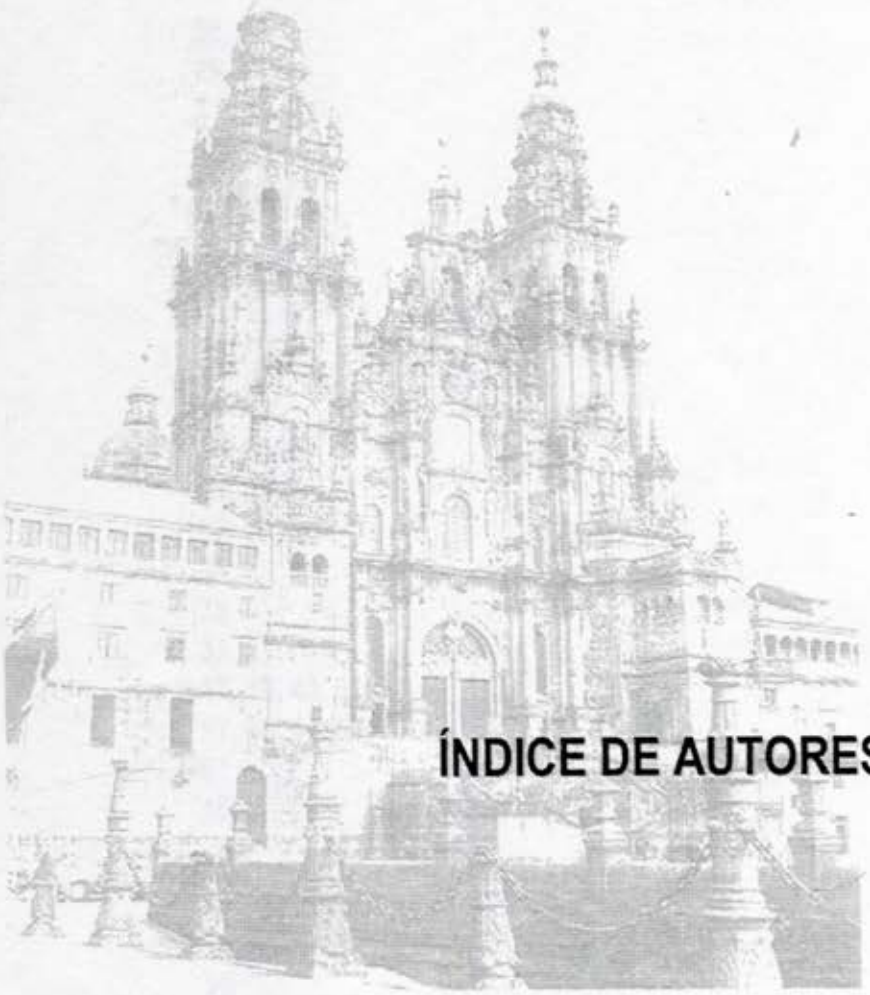
La radiación UV (ultravioleta) de la luz solar es tóxica en los seres vivos. El deterioro de la capa de ozono ha incrementado la incidencia de esta radiación electromagnética sobre la biosfera. Aunque las plantas poseen barreras como los flavonoides que absorben luz UV, esta radiación alcanza el ADN de las células vegetales y por tanto pueden disminuir la estabilidad del genomio, el crecimiento y la productividad. Estos efectos perjudiciales resultan en parte por la formación de fotoproductos que bloquean la replicación y la transcripción.

Las células vegetales responden a estos daños mediante sistemas de reparación del ADN como la fotorreactivación y la escisión de nucleótidos, de tal manera que mutaciones en genes que afectan a estos procesos incrementan enormemente la sensibilidad de esta planta a luz UV. El mecanismo de tolerancia del daño mediante síntesis translesión (TLS), funciona durante la replicación pasando el daño mediante la acción de unas polimerasas especializadas que están muy conservadas desde bacterias hasta humanos y constituyen una gran familia llamada familia Y de polimerasas.

El mecanismo de TLS está poco estudiado en plantas. Nuestro grupo ha identificado en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* dos tipos de ADNc que codifican un homólogo de la polimerasa η, capaz de sobrepasar los dímeros de pirimidina tipo ciclobutano inducidos por la luz UV, y que hemos denominado AtPolη y un homólogo de la proteína Rev1 (AtRev1), transferasa que inserta específicamente dCMP frente a sitios abásicos en un molde de ADN. En la expresión de AtRev1 hemos encontrado eliminación alternativa de intrones.

Actualmente hemos sobreexpresado AtPolη en bacterias para purificar y posteriormente determinar su actividad *in vitro*. La sobreexpresión y silenciamiento de estos genes se está estudiando *in vivo* mediante la construcción de plantas transgénicas. AtPolη y AtRev1 comparten el mismo promotor en direcciones opuestas y hemos conseguido plantas con una construcción que tiene fusionado el promotor correspondiente al gen GUS para realizar estudios de expresión en ambos genes.

NOTAS:



ÍNDICE DE AUTORES

DIRECTORIO DE PARTICIPANTES

A

Abril Díaz, Nieves
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2º Planta
Carretera Madrid-Cádiz Km 396a.
14071, Córdoba
Tel: 957 218 139
Fax: 957 218 688
e-mail: bb1abdim@uco.es

Aguado Ortiz, Leticia
Dpto. Biología Funcional.
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería s/n
33006, Oviedo
Tel: 985 102 723
Fax: 985 103 534
e-mail: leagu25@hotmail.com

Álvarez Fernández, Lidia
Dpto. Biología Funcional.
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería s/n
33006, Oviedo
Tel: 985102723
Fax: 985103534
e-mail: laf@correo.uniovi.es

Álvarez Prechous, Ángel
Departamento de Medicina, Facultade de Medicina
Universidade de Santiago de Compostela
15782, Campus Norte, Santiago de Compostela
Tel: 981 595 371
Fax: 981 582 642
e-mail: med377@usc.es

Arrieta Sáez, Mª Isabel
Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias
Universidad del País Vasco
Barrio Sarriena s/n
48940, Lejona
Tel: 946 012 605/ 946 015 952
Fax: 944 648 500
e-mail: ggparsai@lg.ehu.es

B

Badal Soler, Martí
Grup de Mutagènesi, Departament de Genética y de Microbiologia, Facultat de Ciències
Universitat Autónoma de Barcelona
08193, Bellaterra
Tel: 935 811 831
Fax: 935 812 387
e-mail: marti.badal@uab.es

Bakkali, Fadil
Instituto de Investigación e Análises Alimentarias
Universidade de Santiago de Compostela
Campus sur s/n
15782, Santiago de Compostela
Tel: 981 563 100 (ext. 16025)
Fax: 981 547 171
e-mail: fadil.bakkali@caramail.com

Barral Castro,Manuel
Dirección Xeral de Saúde Pública
Consellería de Sanidade, Xunta de Galicia.
Edificio Administrativo de San Lázaro, s/n
15703, Santiago de Compostela
Teléfono: 981 542 931
e-mail:Manuel.Barral.Castro@sergas.es

Bartoli, Leticia
Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias
Universidad del País Vasco
Barrio de Sarrena s/n
48940, Lejona
Tel: 946 045 952
Fax: 944 648 500
e-mail: letucola77@hotmail.com

Bartolomé Robledo, Fernando
Facultad de C.C. Biológicas.
Universidad S.E.K. de Segovia
Campus Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel: 921 412 410
Fax: 921 445 593
e-mail: smancebo@sekmail.com

Burguillos García, Miguel Ángel
Departamento Biología Celular
Universidad de Sevilla
Avda. Reina Mercedes s/n
41012, Sevilla
Tel: 954 557 042
Fax: 954 610 261
e-mail: madmab90@hotmail.com

C

Callén Moreu, Elsa
Grup de Mutagènesi, Departament de Genética y de Microbiologia, Facultat de Ciències
Universitat Autónoma de Barcelona
08193, Bellaterra
Tel: 935 812 597
Fax: 935 812 387
e-mail: elsa.callen@uab.es

Carballeira Ocaña, Alejo
Departamento de Bioloxía Celular e Ecoloxía, Facultade de Bioloxía
Universidade de Santiago de Compostela
15782, Santiago de Compostela
Tel: 981 563 100 (ext. 13312)
Fax: 981 596 904
e-mail: bfalejo@usc.es

Comendador García, Miguel Ángel
Dpto. Biología Funcional.
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería s/n
33006, Oviedo
Tel: 985 104 195
Fax: 985 103 534
e-mail: mac@correo.uniovi.es

Creus Capdevila, Amadeu
Grup de Mutagènesi. Departament de Genética y de Microbiologia, Facultat de Ciències
Universitat Autónoma de Barcelona
08193, Bellaterra
Tel: 935 812 052
Fax: 935 812 387
e-mail: amadeu.creus@uab.es

Cuellar Pérez, Jorge
Facultad de C.C. Biológicas.

Universidad S.E.K. de Segovia
Campus Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel: 921 412 410
Fax: 921 445 593
e-mail: smancebo@sekmail.com

D

Diago Egido, María Luz
Facultad de C.C. Biológicas.
Universidad S.E.K. de Segovia
Campus Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel: 921 412 410
Fax: 921 445 593
e-mail: ammartin@sekmail.com

Díaz-Valdés Farray, Nancy
Dpto. Biología Funcional
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería s/n
33006, Oviedo
Tel: 985102723
Fax: 985103534
e-mail: nancy@correo.uniovi.es

E

Ezpeleta Echávarri, Olga
Laboratorio de Toxicología (CIFA)
Universidad de Navarra
31080, Irunlarrea s/n, Pamplona
Tel: 948 425 653
Fax: 948 425 652
e-mail: oezpeleta@unav.es

F

Fernández, Mónica A.
Facultad de C.C. Biológicas.
Universidad S.E.K. de Segovia
Campus Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel: 921 412 410

Fax: 921 445 593
e-mail: monicafernandez@sekmail.com

Fernández López, Laura
Grup de Mutagènesi, Departament de Genética y de Microbiologia, Facultat de Ciències
Universitat Autónoma de Barcelona
08193, Bellaterra
Tel: 935 812 597
Fax: 935 812 387
e-mail: lfernandezl@einstein.uab.es

Ferreiro Ríos, Jose Antonio
Dpto. Biología Funcional
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería s/n
33006, Oviedo
Tel: 985 104 195
Fax: 985 103 534
e-mail: jaferreiro@yahoo.com

Fiaño López, Inés
Servicio de Vixilancia da Saúde
Universidade de Santiago de Compostela
Pabellón Estudiantil / Campus sur s/n
15782, Santiago de Compostela
Tel: 981 563 100 (ext. 14520)
Fax: 981 595117
e-mail: ness3@mixmail.com

G

García Arribas, Olga
Instituto de Salud Carlos III
Carretera Majadahonda-Pozuelo, Km. 2
28220, Majadahonda
Tel: 915 097 900, ext. 3022
e-mail: olga.garcia@isciii.es

García Ortiz, Mª Victoria
Dpto. de Genética , Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales, Edificio Mendel,
14071, Córdoba
Tel. 957 218979
Fax 957 212072
e-mail: b42gaorm@uco.es

Garrido Vázquez, M. Joaquín
Instituto de Investigación e Análises Alimentarias
Universidade de Santiago de Compostela
Campus sur s/n
15782, Santiago de Compostela
Tel: 981 563 100 (ext. 16011)
Fax: 981 547 171
e-mail: jgarrido@usc.es

Gaspar, Jorge
Departamento de Genética, Faculdade de Ciências Médicas
Universidade Nova de Lisboa.
Rua da Junqueira 96. 1349-008 Lisboa (Portugal).
e-mail: jgaspar.gene@fcm.unl.pt

González Mancebo, Samuel
Facultad de C.C. Biológicas. Universidad S.E.K. de Segovia
Campus de Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel.: 921 41 24 10
Fax: 921 44 55 93
e-mail: smancebo@sekmail.com

H

Hernando Gastañares, Julia
Dpto. Biología Funcional. C/ Julián Clavería s/n
Universidad de Oviedo
33006, Oviedo
Tel: 985102723
Fax: 985103534
e-mail: jhg@correo.uniovi.es

Herrero, Óscar
Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC
C/ Serrano 115 dpdo
28006, Madrid
Tel. 915 625 020
Fax 915 640 800
e-mail: epena@ccma.csic.es

J

Jiménez Martínez, Juan José

Facultad de C.C. Biológicas. Universidad S.E.K. de Segovia
Campus de Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel.: 921 41 24 10
Fax: 921 44 55 93
e-mail: smancebo@sekmail.com

Jiménez Pasadas, Lourdes
Facultad de C.C. Biológicas. Universidad S.E.K. de Segovia
Campus de Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel.: 921 41 24 10
Fax: 921 44 55 93
e-mail: ammartin@sekmail.com

L

López Castel, Arturo
Grup de Mutagènesi. Departament de Genética y de Microbiologia, Facultat de Ciències
Universitat Autónoma de Barcelona
08193, Bellaterra
Tel: 935 811 831
Fax: 935 812 387
e-mail: arturo.lopez@uab.es

López-Ribadulla Lamas, Manuel
Instituto de Medicina Legal,
Universidade de Santiago de Compostela
15782, Santiago de Compostela
Tel: 981 563 100 (ext.12205)
Fax: 981 580 336
e-mail: apimlriv@usc.es

M

Marcos Carcavilla, Ane
Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias
Universidad del País Vasco
Barrio Sarriena s/n
48940, Lejona
Tel: 946 012 605/ 946 015 952
Fax: 944 648 500
e-mail: anemarca@yahoo.es

Marcos Dauder, Ricard

Grup de Mutagènesi. Departament de Genética y de Microbiologia, Facultat de Ciències
Universitat Autónoma de Barcelona
08193, Bellaterra
Tel: 935 812 052
Fax: 935 812 387
e-mail: ricard.marcos@uab.es

Márquez, Carolina
Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción
Casilla Postal, 160C, Concepción, Chile
Tel: 5641 204 224
Fax 5641239 687
e-mail: wvenegas@udec.cl

Martín Moreno, Ana María
Facultad de C.C. Biológicas. Universidad S.E.K. de Segovia
Campus de Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel.: 921 41 24 10
Fax: 921 44 55 93
e-mail: ammartin@sekmail.com

Matesanz Gómez, Rubén David
Facultad de C.C. Biológicas. Universidad S.E.K. de Segovia
Campus de Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel.: 921 41 24 10
Fax: 921 44 55 93
e-mail: smancebo@sekmail.com

Ménedez Prieto, Mª Dolores
Servicio de Oncología Médica
Complejo Hospitalario Universitario de Santiago
Choupana s/n
15706, Santiago de Compostela
Tel. 981 951 671
Fax:
e-mail: mdmenendezprieto@yahoo.es

Morales Ruiz, Mª Teresa
Dpto. de Genética , Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales, Edificio Mendel,
14071, Córdoba
Tel. 957 218979

Fax 957 212072
e-mail: b52morum@uco.es

O

Ortega Azpitarte, Begoña
Departamento de Biología Animal y Genética, Facultad de Ciencias
Universidad del País Vasco
Barrio Sarriena s/n
48940, Lejona
Tel: 946 012 605/ 946 015 952
Fax: 944 648 500
e-mail: bortazpi@yahoo.com

Ortega Galistea, Ana Pilar
Dpto. de Genética , Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales, Edificio Mendel,
14071, Córdoba
Tel. 957 218979
Fax 957 212072
e-mail: ge2orgaa@uco.es

P

Pardiñas Añón, M. Carmen
Servicio de Vixilancia da Saúde
Universidade de Santiago de Compostela
Pabellón Estudiantil / Campus sur s/n
15782, Santiago de Compostela
Tel: 981 563 100 (ext. 14519)
Fax: 981 595117
e-mail: med377@si.usc.es

Parra Morte, Juan Manuel
Instituto de Salud Carlos III. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Área de Toxicología.
Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Departamento de Protección Vegetal.
Crtra. Majadahonda-Pozuelo Km2
28220, Majadahonda
Tel: 915097993
Fax: 915097991
e-mail: jmparra@isciii.es

de la Peña de Torres, Eduardo

Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC
C/ Serrano 115 dpdo
28006, Madrid
Tel. 915 625 020
Fax 915 640 800
e-mail: epena@ccma.csic.es

Pérez Cadahía, Beatriz
Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias
Universidad de la Coruña
Campus da Zapateira s/n
15071, A Coruña
Tel: 981167000 ext 2030
Fax: 981167065
e-mail: bpc@udc.es

Piñero Bustamante, Joaquín
Departamento Biología Celular
Universidad de Sevilla
Avda. Reina Mercedes s/n
41012, Sevilla
Tel: 954 557 042
Fax: 954 610 261
e-mail: pinero@us.es

Prieto del Álamo, Mª José
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.
Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Edificio Severo Ochoa (C-6), 2º Planta.
Carretera Madrid-Cádiz Km 396a.
14071, Córdoba
Tel: 957 21 80 82
Fax: 957 21 86 88
e-mail: bb2pralm@uco.es

Pueyo de la Cuesta, Carmen
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.
Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Edificio Severo Ochoa (C-6), 2º Planta.
Carretera Madrid-Cádiz Km 396a.
14071, Córdoba
Tel: 957 21 86 95
Fax: 957 21 86 88
e-mail: bb1pucuc@uco.es

R

Rizki, Mostapha
Grup de Mutagènesi. Departament de Genética y de Microbiologia, Facultat de Ciències
Universitat Autónoma de Barcelona
08193, Bellaterra
Tel: 935 812 597
Fax: 935 812 387
e-mail: mrizki@einstein.uab.es

Roldán Arjona, Mª Teresa
Dpto. de Genética , Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales, Edificio Mendel,
14071, Córdoba
Tel. 957 218979
Fax 957 212072
e-mail: ge2roarm@uco.es

Ruano Herrero, Elena
Facultad de C.C. Biológicas. Universidad S.E.K. de Segovia
Campus de Santa Cruz la Real. C/ Cardenal Zúñiga, nº 12.
40003, Segovia
Tel.: 921 41 24 10
Fax: 921 44 55 93
e-mail: smancebo@sekmail.com

S

Sancho Martínez, Ignacio
Dpto. Biología Funcional.
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería s/n
33006, Oviedo
Tel: 985 102 723
Fax: 985 103 534
e-mail: mhitas@hotmail.com

Santiago García, Mª Jesús
Dpto. de Genética , Facultad de Ciencias
Universidad de Córdoba
Campus de Rabanales, Edificio Mendel,
14071, Córdoba
Tel. 957 218979
Fax 957 212072
e-mail: b72sagam@uco.es

Sierra Zapico, L. María
Dpto. Biología Funcional.
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería s/n
33006, Oviedo
Tel: 985 103 889
Fax: 985 103 534
e-mail: lmsierra@correo.uniovi.es

Suárez Figueras, Susanna
Instituto de Investigación e Análises Alimentarias
Universidade de Santiago de Compostela
Campus sur s/n
15782, Santiago de Compostela
Tel: 981 563 100 (ext. 16029)
Fax: 981 547 171
e-mail: ssuarez@usc.es

Sueiro Benavides, Rosa Ana
Instituto de Investigación e Análises Alimentarias
Universidade de Santiago de Compostela
Campus sur s/n
15782, Santiago de Compostela
Tel: 981 563 100 (ext. 16028)
Fax: 981 547 171
e-mail: mprosaan@usc.es

U

Uriol Egido, Esther
Dpto. Biología Funcional.
Universidad de Oviedo
C/ Julián Clavería s/n
33006, Oviedo
Tel: 985 102 723
Fax: 985 103 534
e-mail: euriol@correo.uniovi.es

V

Venegas Soto-Aguilar, Waldo
Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción
Casilla Postal, 160C, Concepción, Chile
Tel: 5641 204 224

Fax 5641239 687
e-mail: wvenegas@udec.cl