

XX CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGÉNESIS AMBIENTAL



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



IMIBIC
INSTITUTO MAIMÓNIDES DE
INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA
DE CÓRDOBA

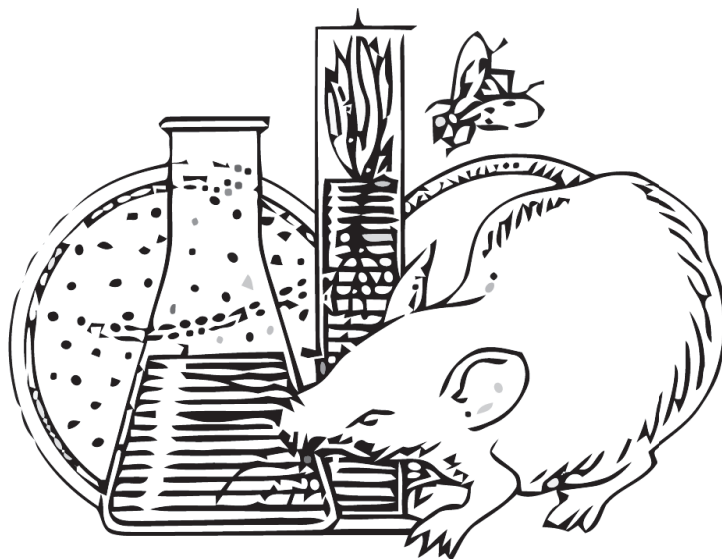


Córdoba, 2 al 4 de Julio de 2012

Sala Mudéjar del Rectorado
Universidad de Córdoba

sema2012





sema2012

XX CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MUTAGÉNESIS AMBIENTAL

Córdoba, 2 al 4 de julio de 2012

Comité Científico:

Ángeles Alonso Moraga

Amadeu Creus Capdevila

Ricardo Marcos Dauder

Santiago Mateos Cordero

Eduardo de la Peña Torres

Carmen Pueyo de la Cuesta

Rafael Rodríguez Ariza

Teresa Roldán Arjona

Luisa María Sierra Zapico

Comité Organizador:

Presidenta: Teresa Roldán Arjona

Secretaria: Dolores Córdoba Cañero

Tesorera: Teresa Morales Ruiz

Vocales: Ángeles Alonso Moraga

M^a Victoria García Ortiz

M^a Isabel Martínez Macías

Jara Teresa Parrilla Doblaz

M^a Isabel Ponferrada Marín

Carmen Pueyo de la Cuesta

Ángel Ramiro Merina

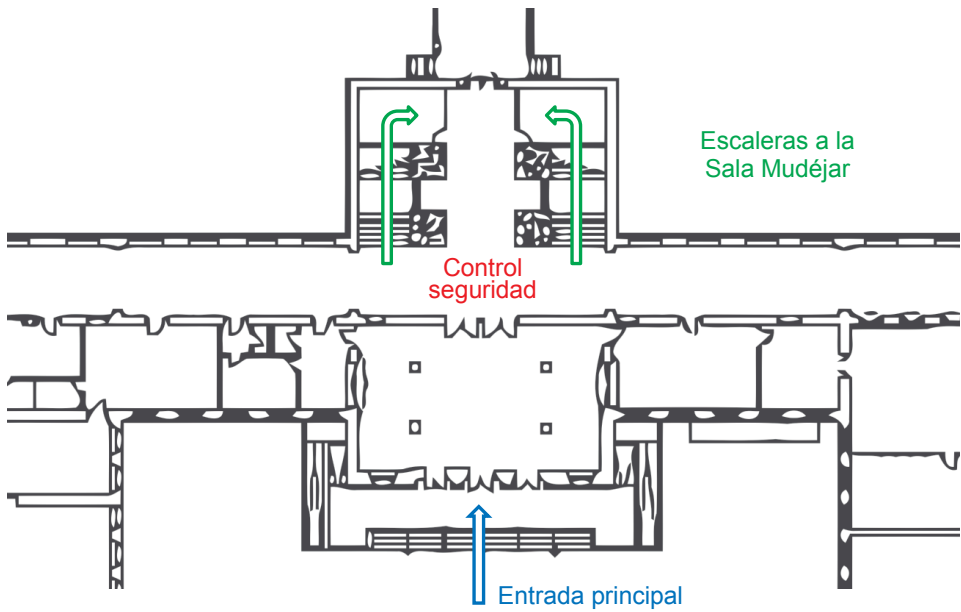
Rafael Rodríguez Ariza

Sede del Congreso





Sala Mudéjar, 1ª planta Rectorado Universidad de Córdoba


Avenida Medina Azahara, s/n.





 **Alcázar de los Reyes Cristianos**
Recepción oficial. Calle de las Caballerizas Reales

 **Mezquita Catedral de Córdoba**
Visita nocturna. Calle Cardenal Herrero

 **Bodegas Campos**
Cena de gala. Calle Lineros, 32

Índice

Programa científico	11
Conferencias invitadas	17
Sesión I: Tolerancia al daño genotóxico y reparación de ADN	25
Sesión II: Tecnologías ómicas en el estudio de la genotoxicidad	35
Sesión III: Genotoxicidad y antigenotoxicidad	45
Sesión IV: Inestabilidad genómica, mutagénesis y carcinogénesis	55
Índice de autores.....	65
Directorio de participantes.....	69

Programa científico



LUNES 2 DE JULIO

11:00-12:30 Registro y Entrega de Documentación

12:30-13:00 Acto de Inauguración Oficial de la Reunión

13:00-14:00 Conferencia Inaugural

The plasticity of DNA damage response during cell differentiation: pathways and consequences.

Eugenia Dogliotti (Istituto Superiore di Sanità, Roma).

14:00-16:30 Almuerzo

16:30-18:30 Sesión I: Tolerancia al daño genotóxico y reparación de ADN
Moderador: Ricardo Marcos

16:30 *Análisis molecular y funcional de la proteína AtMBD4 de Arabidopsis thaliana.*

Ángel Ramiro Merina (Universidad de Córdoba).

17:00 *Bases moleculares de la desmetilación de DNA en Arabidopsis thaliana.*

Jara Parrilla Doblaz (Universidad de Córdoba).

17:30 *Implementación del ensayo del cometa en la detección de daño en Drosophila melanogaster.*

Rubén Rodríguez González (Universidad de Oviedo).

18:00 *Cisplatino: aductos inducidos y roturas detectadas en células humanas en cultivo en distintas condiciones de reparación.*

Marta Espina Fernández (Universidad de Oviedo).

21:30 Recepción Oficial en el Alcázar de los Reyes Cristianos y
Cocktail de Bienvenida en Patio San Basilio

MARTES 3 DE JULIO

9:30-12:00 Sesión II: Tecnologías ómicas en el estudio de la genotoxicidad
Moderador: María Sierra

9:30 *Omic approaches in environmental risk assessment.*

Nieves Abril Díaz (Universidad de Córdoba).

10:00 *Evaluación de la calidad ambiental de ecosistemas acuáticos en el entorno del Parque Nacional de Doñana.*

Inmaculada Osuna Jiménez (Universidad de Córdoba).

10:30-11:00 Café

11:00 *Molecular basis of the beneficial effects of Salicornia spp. consumption on algerian mouse Mus spretus global health.*

Ricardo Fernández Cignal (Universidad de Córdoba).

- 11:30 *La inhibición de los factores nucleares 1 α y 4 α como mecanismo de carcinogénesis del arsénico.*
Laura Vila Vecilla (Universidad Autónoma de Barcelona).

12:00-13:00 Conferencia Invitada

The specific contributions of cohesin-SA1 to cohesion and gene expression: implications for cancer and development.
Ana Losada (CNIO Madrid).

14:00-16:30 Almuerzo

16:30-18:30 Sesión III: Genotoxicidad y antigenotoxicidad
Moderador: Eduardo de la Peña

- 16:30 *Nanogenotox, an EU Project aiming to define robust protocols to estimate the genotoxic potential of nanomaterials.*
Ricardo Marcos Dauder (Universidad Autónoma de Barcelona).
- 17:00 *DNA damage induced by silver nanoparticles in three different human cell lines (BEAS-2B, CACO-2 and TK6).*
Gerard Vales Segura (Universidad Autónoma de Barcelona).
- 17:30 *Aumento de la sensibilidad del ensayo del cometa para evaluar la genotoxicidad de compuestos químicos.*
Amaya Azqueta Oscoz (Universidad de Navarra).
- 18:00 *Aplicación del ensayo del cometa para evaluar el efecto antioxidante de posos de café.*
Leire Arbillaga Lacunza (Universidad de Navarra).

18:30-19:00 Asamblea SEMA

22:00 Visita Nocturna a la Mezquita-Catedral y Cena Oficial del Congreso en Bodegas Campos

MIÉRCOLES 4 DE JULIO

10:00-12:30 Sesión IV: Inestabilidad genómica, mutagénesis y carcinogénesis
Moderador: Carmen Pueyo

- 10:00 *Discovery of a novel Fanconi anemia gene responsible of three Genome Instability Disorders.*
Juan Pablo Trujillo Quintero (Universidad Autónoma de Barcelona).
- 10:30 *¿Están el arsénico y la ruta Fanconi entrecruzados?*
Jana Peramartí Brosel (Universidad Autónoma de Barcelona).

11:00-11:30 Café

- 11:30 *Evaluación del daño genómico en pacientes con insuficiencia renal crónica.*
Zuray Corredor Mancilla (Universidad Autónoma de Barcelona).
- 12:00 *Common genetic variants in pituitary - thyroid axis genes and the risk of differentiated thyroid cancer.*
Susana Pastor (Universidad Autónoma de Barcelona).

12:30-13:30 Conferencia de Clausura

Molecular biomarkers and integrated Environmental Risk Assessment in estuarine ecosystems.
María Helena Da Costa (Universidade Nova de Lisboa)

13:30 Clausura

14:00 Almuerzo

Conferencias invitadas



The plasticity of DNA damage response during cell differentiation: pathways and consequences

E. Dogliotti¹

¹Department of Environment and Primary Prevention, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma, Italy

DNA damage constantly arises throughout life either by endogenous sources (e.g. cell metabolism) or by external agents (e.g. radiation). Depending on the time maintenance and function of a specific cell type the risk of accumulating DNA damage may vary. For instance damage to stem cells if not repaired can lead to mutation amplification or propagation through the processes of self-renewal and differentiation, respectively whereas damage to post-mitotic cells can affect mostly tissue homeostasis. To counteract these effects cells are provided of a variety of DNA repair mechanisms and signalling pathways, the so called DNA damage response (DDR), that ensure that DNA damage is repaired. Emerging evidence suggests that stem cells address DNA damage differently from their somatic counterpart. The information available on the common and distinct DDR mechanisms utilized along the self-renewal/differentiation processes will be reviewed. Recent data on the role of DDR in the control of muscle integrity will be presented by using as a model an *in vitro* skeletal muscle cell differentiation system exposed to different types of DNA-damaging agents

NOTAS

The specific contributions of cohesin-SA1 to cohesion and gene expression: implications for cancer and development

Ana Losada¹

¹Chromosome Dynamics Group, Spanish National Cancer Research Centre (CNIO), Madrid, Spain

Cohesin is an evolutionarily conserved complex originally identified and named for its role in sister chromatid cohesion. Increasing evidence suggests that cohesin is also a major chromatin organizer of the interphase nucleus, and thereby affects many aspects of DNA metabolism including transcription, replication and recombination. Cohesin entraps two DNA segments within its ring-shaped structure either in trans, to hold the sister chromatids together, or in cis, to facilitate long-range DNA looping. Vertebrate somatic cells have two different versions of the cohesin that consist of Smc1, Smc3, Rad21 and either SA1 or SA2, but their functional specificity has been largely ignored. We recently generated a knock out mouse model for the gene encoding SA1 and found that this protein is essential to complete embryonic development. Cohesin-SA1 mediates cohesion at telomeres, which is required for their replication. Telomere defects in SA1 deficient cells provoke chromosome segregation errors resulting in aneuploidy despite robust centromere cohesion. This aneuploidy could explain why heterozygous animals have an earlier onset of tumourigenesis. In addition, the genome wide distribution of cohesin changes dramatically in the absence of SA1, and the complex shows reduced accumulation at promoters and CTCF sites. As a consequence, gene expression is altered leading to downregulation of biological processes related to a developmental disorder linked to cohesin function, the Cornelia de Lange Syndrome (CdLS).

NOTAS

Molecular biomarkers and integrated Environmental Risk Assessment in estuarine ecosystems

Maria Helena Costa¹

¹IMAR – Instituto do Mar, Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, 2829-516 Caparica, Portugal

Estuarine sediments can be a reservoir of contaminants from several sources that, under certain circumstances, may be returned available to the biota. The assessment of the toxicological potential of sediment-bound xenobiotics has many constraints, especially related to the complex geochemical nature of the sediment matrix and to the potential existence of multiple classes of contaminants. The Sado Estuary will be presented as a case study. In order to contribute to a weight-of-evidence approach to assess the ecological risk of estuarine sediments, an integrated methodology was implemented, based in bioassays, both in situ and in the laboratory and/or in monitoring natural populations. In any case, ecological relevant species were used, namely the fish *Solea senegalensis*, the mollusks *Ruditapes deussatus* and *Sepia officinalis* and the crustacean *Gammarus locusta* and batteries of complementary biomarks, from biochemical and genetical to histopatological and individual responses were analyzed. The integration of biological responses with sediment parameters revealed that the biomarkers that in essence reflect some measure of lesion allow a much more consistent distinction between contaminated and uncontaminated sediments. In addition, molecular biomarkers permitted inferring patterns of metabolic change and assess how these changes contribute to the impairment of the response machinery to chemical insult, from apoptosis to anti-oxidative defense, among others. It was demonstrated that even moderately contaminated sediments can cause adverse effects to organisms and trigger responses that reflect the intricate machinery beneath exposure to complex mixtures of xenobiotics, either for monitoring or for mechanistic studies, especially when the existence of multiple contaminants tends to dilute biomarker specificity. Finally a special attention to frequent confounding factors, such as parasites and species physiological condition, which should be accounted for in environmental monitoring research.

NOTAS

Sesión I

Tolerancia al daño genotóxico y reparación de ADN



Análisis molecular y funcional de la proteína AtMBD4 de *Arabidopsis thaliana*

Ramiro-Merina, Ángel¹; Ariza, Rafael R.¹; Roldán-Arjona, Teresa¹

¹Departamento de Genética, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC)/Hospital Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, España

MBD4 es una ADN glicosilasa que ha sido propuesta como un factor central para el mantenimiento de la integridad del genoma y las respuestas al daño del ADN. Existen pruebas de que en vertebrados participa en la reparación por escisión de bases, la reparación de apareamientos erróneos, el control del ciclo celular en respuesta a daños en el genoma y la desmetilación del ADN, lo que implicaría un posible papel en procesos de regulación epigenética. Sin embargo, se desconoce si en plantas existe alguna proteína que desempeñe funciones similares.

Mediante análisis bioinformático hemos identificado un gen de la planta modelo *Arabidopsis thaliana* (*AtMBD4*) que codifica un posible ortólogo de MBD4. Nuestro objetivo es determinar si la proteína AtMBD4 participa en la reparación de productos de desaminación de la 5-meC y/o C, en el proceso de desmetilación de ADN, o en algún otro mecanismo relacionado con la integridad del genoma y/o la regulación epigenética en plantas.

Para la caracterización *in vitro* de la actividad bioquímica de AtMBD4 se ha purificado la enzima en forma recombinante y se ha analizado su actividad catalítica sobre diferentes lesiones localizadas en diversos contextos de secuencia. Hemos confirmado que posee actividad ADN glicosilasa frente a timina, uracilo y diversos derivados halogenados de éste. Además, los resultados indican que AtMBD4 se une al sitio abásico que genera en el ADN tras la escisión de la base, lo que explicaría su baja tasa de recambio *in vitro*.

Paralelamente a su caracterización bioquímica, hemos comenzado a estudiar la función *in vivo* de esta enzima. Mediante RT-PCR y transformación de plantas con una construcción del gen *GUS* precedido del promotor de *AtMBD4* hemos analizado los niveles de expresión en diferentes tejidos y etapas del desarrollo de *Arabidopsis*. Hemos observado que *AtMBD4* se expresa en múltiples tejidos y a lo largo de todo el desarrollo de la planta, sugiriendo una función basal aún por determinar.

Asimismo, hemos identificado una línea de plantas mutantes (FLAG_249E06/_238F06) que presentan una inserción de ADN-T próxima a la región 3' UTR de *AtMBD4*. Hemos comprobado por medio de RT-PCR que las plantas *atmbd4*^{-/-} tienen un nivel de expresión de *AtMBD4* muy reducido a causa de esta inserción. Además, hemos realizado un análisis fenotípico de las plantas mutantes en comparación con las silvestres y se ha comenzado a estudiar su respuesta a la presencia de diferentes mutágenos en el medio de crecimiento.

NOTAS

Bases moleculares de la desmetilación de DNA en *Arabidopsis thaliana*

Parrilla-Doblas, Jara¹, Ponferrada-Marín, María Isabel¹; Roldán-Arjona, Teresa¹; Ariza Rafael R.¹

¹Departamento de Genética, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC)/Hospital Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, España

La metilación de la citosina (5-meC) es una modificación epigenética estable pero reversible que inhibe la expresión génica y que desempeña un papel fundamental durante el desarrollo de animales y plantas, así como en el control de la impronta genética, la compensación génica del cromosoma X, o la defensa frente a virus y elementos transponibles. Los patrones de metilación del DNA son el resultado dinámico de procesos de metilación y desmetilación, pero estos últimos todavía no se conocen con detalle. En plantas hay pruebas genéticas y bioquímicas de la existencia de una familia de DNA glicosilasas que inician la desmetilación del DNA a través de la escisión de la 5-meC por un mecanismo análogo a la escisión por reparación de bases (BER). La proteína ROS1 de *Arabidopsis thaliana* constituye un miembro representativo de esta familia de 5-meC DNA glicosilasas, cuyos miembros presentan una región central con secuencia similar a proteínas de la superfamilia HhH-GPD. Mediante alineamiento con proteínas de estructura conocida, hemos generado un modelo tridimensional del dominio catalítico de ROS1, constituido por dos segmentos no contiguos separados por una secuencia no conservada. Hemos usado este modelo para predecir la localización de aminoácidos implicados en el reconocimiento de la base apareada con la 5-meC y que participan en el mecanismo catalítico. A partir de esta predicción hemos generado distintas versiones mutantes de ROS1 y analizado su actividad enzimática así como su capacidad de unión a diferentes sustratos de DNA. Hemos encontrado que los residuos R903 y M905 son esenciales para la escisión de la 5-meC de la doble hélice, probablemente porque establecen interacciones específicas con la G situada en la cadena complementaria. Además, nuestros datos revelan que el residuo Q607, que ya habíamos identificado como “base flipper”, desempeña un papel fundamental en el control del deslizamiento de la proteína sobre el DNA. En base a estos resultados, hemos propuesto un modelo para explicar cómo localiza ROS1 a su base diana en el genoma y cataliza su escisión.

NOTAS

Implementación del ensayo del cometa en la detección de daño en *Drosophila melanogaster*

Rodríguez, Rubén¹; Gaivão, Isabel²; Sierra, L. María¹

¹Dpto. Biología Funcional e IUOPA, Universidad de Oviedo; ²Dpt. de Genética e Biotecnología, e CECAV, Universidad de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal

El ensayo del Cometa es uno de los test más ampliamente utilizados en la detección de daño en el DNA, analizando la generación de roturas de DNA. Recientemente, Gaivão et al. (2009; Cell Biol Toxicol 25, 45-52) han descrito una nueva utilidad de este ensayo: la medida y cuantificación de la reparación de daños en el DNA *in vitro*.

En nuestro laboratorio trabajamos desde hace tiempo en el estudio de distintos genes de reparación de *D. melanogaster*, como *mus308* o *mus201*, utilizando el ensayo del Cometa, y agentes modelo como metilmetanosulfonato (MMS, agente alquilante monofuncional). Para poder realizar comparaciones entre los efectos de estos genes en la reparación de distintos tipos de daño, estamos implementando el ensayo del Cometa en neuroblastos de larvas de *Drosophila* con la técnica de cuantificar reparación *in vitro*. Para ello, hemos obtenido extractos celulares de cada una de las líneas mutantes, y también de la línea *Ok-y*, eficiente en reparación. Estos extractos se utilizan para incubar los neuroblastos de *Drosophila* de la línea *Ok-y*, una vez tratados *in vivo* con MMS y también con juglona (JG, agente inductor de daño oxidativo) y, por supuesto, con el control negativo, durante 12 horas.

La incubación con el extracto de la línea *Ok-y* incrementa los valores de momento de la cola, especialmente en las células tratadas con MMS y JG. Este resultado indica que los daños inducidos por estos compuestos que no generan roturas directamente, y que no se habían reparado, son detectados por los enzimas del extracto generando nuevas roturas. La incubación con extractos de la línea *mus201* también incrementa los valores de momento aunque al tratar con los dos compuestos, los valores de momento no se diferencian de los controles respectivos, indicando que cuando *mus201* no funciona no se detectan mas daños que los espontáneos. En cuanto a *mus308*, al menos para MMS, sí que se encuentran diferencias en los valores del momento entre tratamiento y control, debidas a la detección de los daños inducidos por este compuesto, aunque son menores que las detectados para *OK-y*. Estos resultados demuestran que tanto las células control, como las tratadas, aún siendo eficientes en reparación, presentan numerosos daños que se pueden detectar con la reparación *in vitro*, aumentando así la sensibilidad del ensayo.

Además, estos resultados sugieren que los dos genes analizados participan en la reparación de los daños inducidos por MMS y JG. Por tanto, podemos concluir que este tipo de implementación es útil para analizar el papel de los distintos genes en la reparación y/o procesamiento de daño.

NOTAS

Cisplatino: aductos inducidos y roturas detectadas en células humanas en cultivo en distintas condiciones de reparación

Espina, Marta¹; Corte, Mario²; Sierra, Marta³, Montes, María², Blanco, Elisa², Sierra, L. María¹

¹Dpto. Biología Funcional e IUOPA, Universidad de Oviedo; ²Dpto. Química Física y Analítica, Universidad de Oviedo; ³Laboratorio de Oncología Médica-IUOPA, Universidad de Oviedo.

El cisplatino (cDDP) es un fármaco antitumoral ampliamente utilizado en el tratamiento de distintos tipos de tumores, aunque presenta problemas importantes de resistencia. Con el fin de encontrar un método que permitiera predecir la respuesta de los pacientes al tratamiento con este fármaco, en nuestro laboratorio se llevaron a cabo estudios para tratar de relacionar los aductos generados en el ADN por cDDP con sus consecuencias genéticas. Los resultados obtenidos mostraron que existe una clara correlación entre los aductos detectados y sus consecuencias genéticas en *Drosophila melanogaster* (García Sar et al. 2012; Mutat Res GTEM 741: 81-88). Sin embargo, sorprendentemente, el nivel de aductos detectado en condiciones deficientes para el sistema de reparación por escisión de nucleótido (NER) era menor que el detectado en condiciones eficientes. Además, mientras que en células de mamífero y en ratas *in vivo* se detectan únicamente bisaductos (enlaces cruzados G-G y G-A), en *D. melanogaster* se detectaron varios tipos de aductos, incluidos monoaductos.

Para comprobar estos resultados en células de mamífero, se emplean dos líneas celulares humanas, una línea de adenocarcinoma de pulmón (A549) y otra de carcinoma de ovario mutante para el gen *XPA* (GM04312) y, por tanto, deficiente en el sistema NER. Ambas líneas celulares se tratan con distintas concentraciones de cDDP durante 3h y se analiza también el efecto de 1 hora de recuperación. Los niveles de aductos inducidos se determinan con la misma técnica que en estudios anteriores (HPLC acoplada a ICP-MS), mientras que sus consecuencias genéticas se cuantifican en términos de inducción de roturas en el ADN mediante el ensayo del Cometa.

Los resultados preliminares obtenidos hasta la fecha, muestran que, aunque no se detecta el amplio espectro de aductos obtenido con *D. melanogaster*, parece que además de los bisaductos se detecta al menos otro aducto que podría ser el monoaducto de G. En cuanto al ensayo del Cometa, cisplatino induce una respuesta débilmente positiva a las 3 h de tratamiento, que es mayor en la línea A549 que en la línea mutante *XPA*. Por el contrario, después de 1 h de recuperación los niveles de roturas son mayores en la línea mutante *XPA* que en la A549, lo que evidencia actividad de reparación en esta última línea. Por último, con los datos preliminares que tenemos, parece que puede existir un relación entre los aductos inducidos y las roturas de DNA detectadas, al menos en la línea A549.

NOTAS

Sesión II

Tecnologías ómicas en el estudio de la genotoxicidad



Omic approaches in environmental risk assessment

Abril, Nieves; Osuna-Jiménez, Inmaculada; Fernández-Cisnal, Ricardo; Chicano Gálvez, Eduardo; Prieto-Álamo, M^a José; Alhama-Carmona, José; Gómez-Ariza, J. Luis; López-Barea, Juan & Pueyo, Carmen

Dep. Biochemistry & Molecular Biology. Agrifood Campus of International Excellence (ceiA3). University of Cordoba. Rabanales, C6 2nd floor. 14071 Córdoba. Spain.

Conventional environmental health risk assessment implies the measurement of a limited set of biological responses supposed to be elicited by the compound, the so called biomarkers. Hence, many other responses of similar or even higher importance can be ignored and the prediction of risk to susceptible populations of pollutants result underestimated. Integration of genomic-based methodologies into ecotoxicology using transcriptome, proteome and metabolome analyses, has permitted (i) to maximize the information obtained from limited testing species; (ii) to reduce the future level of routine ecotoxicity testing; (iii) to allow identification and understanding mechanisms of toxicity of existing and emerging pollutants that may aid developing predictive simulation models of toxic effects; (iv) to link molecular and cellular biomarkers with higher level population and ecosystem responses; and (v) to anticipate potential ecological risks for new chemicals and emerging technologies.

This work aims to provide a working scheme for the use of combined transcriptomic, proteomic and metallomic methodologies in environmental biomonitoring. Among others, we have used the *Mus spretus* mouse and the *Procambarus clarkii* crayfish as sentinel organisms. *M. spretus* is an unprotected rodent that typically inhabits marshlands. The red swamp crayfish, *P. clarkii*, is one of the most important freshwater decapods farmed for consumption. It is well established that both bioindicators are good sentinels for assessing the effects of contaminants in terrestrial and aquatic environments, respectively. Animals were collected at different zones in the SW region of Spain, mainly Huelva city and its polluted industrial parks (Punta del Sebo and the Domingo Rubio Stream), and the boundaries of the Doñana National Park, where industrial and intensive agriculture activities generate a big amount of pollutants that reach the Park, one of the most important European biological reserves, and its inhabitants.

The difficulties of working with non-model organisms as bioindicators have been solved by combining several omic approaches. As a whole, our results with heterologous microarrays in *M. spretus* and suppressive subtractive hybridization (SSH) in *P. clarkii* indicated that animals sustaining a heavy pollution burden exhibited enhanced immune, oxidative and xenobiotic stress responses. The proteomic studies provided a holistic insight regarding the manner by which pollution shifts protein amounts in two-dimensional gel electrophoresis, and the peptide amounts in iTRAQ. The metallomic analysis revealed the presence of low molecular mass metallothionein-like proteins in animals captured at polluted areas, according to the high metal levels found in these animals tissues. This integration of metallomics with proteomics and transcriptomics can be useful in further studies for assessment of environmental issues. (Grants: CTM2009-12858-C02-02 and CVI-3829)

NOTAS

Evaluación de la calidad ambiental de ecosistemas acuáticos en el entorno del Parque Nacional de Doñana

Osuna-Jiménez, Inmaculada; Fernández-Cisnal, Ricardo; Abril, Nieves; Vioque-Fernández, Amalia; Prieto-Álamo, M^aJosé; López-Barea, Juan; Pueyo, Carmen

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, CeIA3. Rabanales, edificio C6 2ª planta. 14071 Córdoba. España

El cangrejo rojo americano *Procambarus clarkii* ha venido siendo regularmente utilizado como bioindicador de contaminación ambiental. Este estudio busca identificar nuevos biomarcadores moleculares mediante la aplicación integradora de diversas metodologías ómicas, evitando el sesgo asociado a los marcadores convencionales. Las dificultades inherentes al hecho de trabajar con organismos como *P. clarkii*, de gran interés ambiental pero escasamente representados en las bases de datos y, además, alejados filogenéticamente de cualquier organismo modelo, han sido resueltas utilizando la técnica de hibridación sustractiva por supresión (SSH) para el análisis de los perfiles de expresión diferencial de transcritos, y la tecnología 2D-Difference Gel Electrophoresis (2D-DiGE) para la cuantificación de las variaciones en los niveles de proteínas. Se han estudiado dos zonas (Matochal, MAT y Partido, PAR) externas y próximas al Parque Nacional de Doñana, en las cuales se desarrolla una intensa agricultura. Como zona de referencia se eligió la Laguna del Palacio (LP), en el corazón de la Reserva Biológica de Doñana.

Mediante SSH se obtuvieron cuatro genotecas que permitieron identificar los genes para los cuales hay mayor nivel de transcritos en las zonas contaminadas MAT y PAR o en la zona de referencia LP. Se secuenciaron cerca de 150 clones de cada genoteca, que se correspondieron con un total de 44 ESTs diferentes. De éstas, 26 (59%) se identificaron mediante comparación con las bases de datos. De las 18 restantes (41%), 14 no presentaron homología con ninguna secuencia y 4 se correspondieron con secuencias anotadas pero no identificadas con proteínas. Las secuencias identificadas pertenecen a genes relacionados con respuesta a estrés en general y con la respuesta inmune en particular, como el caso de *hemocianina-2*, una profenol-oxidasas que se activa proteolíticamente convirtiéndose en un inductor de la inflamación. El análisis proteómico de las muestras mediante 2D-DiGE reveló diferencias significativas en 15 spots, correspondientes a un total de 11 proteínas distintas, de las cuales 7 vieron sus niveles elevados en las zonas contaminadas y 4 disminuyeron. Se encontraron coincidencias con los datos transcriptómicos en el caso de las proteínas *hemocianina* y *ferritina*.

La integración de los resultados de ambas aproximaciones permitirá evaluar mejor cómo responde este bioindicador a la contaminación presente en el ecosistema en que viven. Esas respuestas se pueden utilizar como biomarcadores moleculares para el seguimiento y la evaluación de la calidad ambiental.

Financiación MICINN; Referencia del proyecto CTM2009-12858-C02-02

NOTAS

Molecular basis of the beneficial effects of *Salicornia* spp. consumption on algerian mouse *Mus spretus* global health

Nieves Abril, Ricardo Fernández-Cisnal and Carmen Pueyo

Dep. Biochemistry & Molecular Biology. Agrifood Campus of International Excellence (ceiA3). University of Cordoba. Rabanales, C6 2nd floor. 14071 Córdoba. Spain.

Classical laboratory mouse stocks have a serious drawback when compared with human populations since they exhibit a poor variety of natural genetic polymorphisms. In contrast, wild-derived inbred strains established from progenitors of different subspecies and species, such as *M. spretus*, provide a reservoir of additional phenotypic variation, which makes them a valuable complement to laboratory strains for studying the genetics of complex diseases, as is the case of obesity, the modern global epidemic that have replaced undernutrition and infectious diseases as the most significant contributor to ill health. Genetics, environmental and diet are involved in the development of obesity and the progression of its life threatening complications, i.e., insulin resistance (type 2 diabetes mellitus) and cardiovascular diseases, through modulation of various fundamental metabolic pathways i.e. food intake, lipid metabolism (hyperlipidemia), oxidative stress and immune system (inflammation).

Treatment of obesity involves diet control, exercise and pharmaceutical therapy. Plants represent a source of biologically active substances which can become new therapeutic anti-obesity agents with fewer toxic side effects than synthetic drugs. The halophyte *Salicornia* spp is an abundant plant growing on salt marshes and muddy seashores along the south-western coastal areas of Spain. *Salicornia* has been traditionally used in popular medicine and as a seasoned herb in several countries. Some recent studies have proposed that its extract and components possess antioxidative, antiinflammatory, antihyperglycemic, antihyperlipidemic and anti-adipogenic activities.

Fifteen-month-old male and female mice were fed a normal or a *Salicornia*-enriched diet for 4 week. Body weight was 38% lower in mice fed the *Salicornia*-enriched diet already, while it was the same (males) or even increased (females) in control mice. In *Salicornia*-fed animals, circulating glucose, triglycerides and cholesterol levels were reduced, especially in males. Transcriptomic analysis by real-time qRT-PCR in the liver of these *Salicornia*-fed mice revealed a substantial increase in the levels of antioxidative enzymes (GPX3) and anti-xenobiotics and anti-stress sulfotransferases (SULT1D1) mRNAs, whereas the transcript levels corresponding to enzymes involved in lipid metabolism, especially in cholesterol biosynthesis (HMGCR, IDI1), and to the protease inhibitor A2M, implicated in Alzheimer's disease, atherosclerosis, and other age-related diseases, decreased markedly. Further studies are being carried out to elucidate the molecular basis of beneficial effects of *Salicornia* consumption over health.

(Grants: CTM2009-12858-C02-02 and CVI-3829)

NOTAS

La inhibición de los factores nucleares 1 α y 4 α como mecanismo de carcinogénesis del arsénico

Vila, Laura¹; Pastoret, Anna¹; Marcos, Ricard^{1,2}; Hernández, Alba^{1,2}

¹Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Biociències, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Spain; ²CIBER Epidemiología y Salud Pública, ISCIII, Spain

El arsénico inorgánico (i-As) es un carcinógeno ambiental que afecta a millones de personas en el mundo. Estudios epidemiológicos muestran un aumento en la incidencia de cáncer de hígado en poblaciones expuestas de forma crónica, pero sus mecanismos de carcinogénesis siguen sin haber sido descritos claramente. Los factores nucleares hepáticos 1 y 4 alfa (HNF1 α y HNF4 α) son los miembros más importantes de una red de transcripción, esencial para el mantenimiento de la arquitectura hepática. Cambios en la expresión de estos dos factores se asocian con el desarrollo de tumores en el hígado. Con el fin de evaluar si el i-As es capaz de comprometer la expresión del HNF1 α y HNF4 α como mecanismo de carcinogénesis, tanto la línea celular HepG2 como un modelo animal (hámster) se expusieron crónicamente a dosis ambientalmente relevantes de arsenito de sodio (hasta 10 μ M *in vitro*, y 15 mg/L *in vivo*). Los resultados muestran una subexpresión constante de los HNFs bajo un escenario de exposición en que las HepG2 (i) adquirieron resistencia a la apoptosis, (ii) perdieron propiedades específicas de tejido -subexpresión de *AldoB*, *Pepck* y *Cyp1a2*, inicio de la transición epitelio/mesénquima e hipersecreción de las metaloproteinasas 2 y 9- y (iii) no pudieron mantener equilibrado su programa de autorenovación -desregulación de C-MYC, OCT3/4, LIN28 y NOTCH2-.

Tras estas observaciones, y debido a la fuerza que está cobrando últimamente la hipótesis de que el i-As afecta selectivamente a las células madre para dar lugar a las células madre cancerosas (CSCs) capaces de originar y hacer progresar un tumor, las CSCs y las células adultas diferenciadas (ACCs) de las HepG2 crónicamente expuestas se han separado mediante la técnica de las *magnetic beads*. La expresión de los HNFs y de los marcadores de diferenciación se ha evaluado en las dos poblaciones de células por separado. Los resultados indican, por un lado, que la exposición crónica al i-As reduce el porcentaje de CSCs del cultivo mientras que, por el otro, provoca la desdiferenciación de las ACCs para -presumiblemente- acabar dando lugar a nuevas CSCs.

En conjunto, nuestros resultados demuestran que la inhibición crónica de los HNFs juega un papel importante en los efectos observados indicadores de cáncer. Además, el efecto diferencial observado en las dos poblaciones de células pone sobre la mesa un mecanismo de acción con fuertes implicaciones en el uso del arsénico como agente antitumoral.

NOTAS

Sesión III

Genotoxicidad y antigenotoxicidad



Nanogenotox, an EU Project aiming to define robust protocols to estimate the genotoxic potential of nanomaterials

Vales, Gerard¹; Creus, Amadeu^{1,2}; Marcos, Ricard^{1,2}

¹Grupo de Mutagénesis, Departamento de Genética y de Microbiología, Facultad de Biociencias, Universidad Autónoma de Barcelona; ²CIBER de Epidemiología y Salud Pública, Instituto de Salud Carlos III.

The interesting physicochemical properties of the newly produced nanomaterials have led to the rapid expansion of their use and, consequently, toward an increased risk of environmental release and to its consequent human exposure. Thus, exposure to nanoparticles is certainly occurring at present, and it is expected to increase in the near future due to the growth of the nanotechnology industry. The physicochemical properties of nanomaterials may suppose new harmful biological responses that must be carefully studied. Of particular interest are their possible genotoxic effects.

Since it is not clear if classical protocols of genotoxicity are appropriate for the genotoxicity testing of nanomaterials, an EU project has been launched to determine which assay and cell type produce better results with these new materials.

In a first stage, two assays (Comet and Micronucleus) and six different cell types (Caco-2, BEAS-2B, 16HBE, NHEK, A549 and human lymphocytes) have been used to test 14 different nanomaterials (4 silica dioxides, 4 titanium dioxides and 6 carbon nanotubes). Twelve groups participate in this *in vitro* study. This first stage will end with a robin test to define the best cell line, best assay and the appropriate protocol to test nanomaterials.

In the first stage, the group at the UAB has used BEAS-2B, 16HBE and Caco-2 cells to test 10 nanomaterials (4 silica oxides and 6 carbon nanotubes) using the comet assay complemented with the use of the formamidopyrimidine-DNA glycosylase enzyme (FPG).

The results indicated that, with the exception of one carbon nanotube (NM401 in Caco-2 cells) and one silica nanomaterial (NM200 in 16HBE cells), all the results obtained in the comet assay are negative.

According to the inconclusive results obtained during the first stage experiments, for the round robin test experiments two cell lines have been selected: Caco-2 and BEAS-2B, two assays: comet and micronucleus and three nanomaterials (one of each). Six groups will work with the Caco-2 cell line and the other six with the BEAS-2B cell line.

NOTAS

DNA damage induced by silver nanoparticles in three different human cell lines (BEAS-2B, CACO-2 and TK6)

Vales, Gerard¹; Rubio, Laura¹; Vela, Lourdes¹; Creus, Amadeu^{1,2}; Marcos, Ricard^{1,2}

¹Grupo de Mutagénesis, Departamento de Genética y de Microbiología, Facultad de Biociencias, Universidad Autónoma de Barcelona; ²CIBER de Epidemiología y Salud Pública, Instituto de Salud Carlos III.

Nanotechnology is an emergent field and many products commercially available have engineered nanomaterials in their composition. Besides the increasing presence of these compounds, the same novel properties that make them interesting for industrial purposes had also raised some concerns about their toxicity. Therefore, the analysis of the genotoxic risk associated to nanomaterials exposure has become an expansive field.

Many different materials are used as additives, being the silver-based nanoparticles the most common material found in product description among the nanotechnology-based products. In this work we have carried out the genotoxic evaluation of silver nanoparticles in three different human cell lines (BEAS-2B, Caco-2 and TK6).

Exposure treatments for the three cell lines lasted for 3 hours and, in addition, TK6 cells were also treated for 24 hours. The dose range was up to 100 µg/mL, and the genetic damage was measured by means of the comet assay. The standard comet assay was complemented by using the formamidopyrimidine-DNA glycosylase (FPG) enzyme, to determine DNA oxidation as a possible mechanism for the genotoxic action of silver nanoparticles. In parallel, the apoptosis rate and the effect on the cell cycle was analyzed in the BEAS-2B and Caco-2 cell lines by flow cytometry.

The results showed that, although no significant increases in the levels of DNA damage were observed in the standard version of the comet assay, significant increases in the percentage of DNA in the comet tail were observed when FPG was used. Also, no effect on the apoptosis rate was seen neither in BEAS-2B nor in Caco-2 cells, although cell cycle arrest in Caco-2 was observed in 50 and 100 µg/mL.

With respect to the sensitivity of the cell lines to the oxidative effects of silver nanoparticles it was, Caco-2 > BEAS-2B > TK6. The results indicate that the selection of the cell line is an important factor to avoid positive/negative false results, when testing the toxicity of nanomaterials.

NOTAS

Aumento de la sensibilidad del ensayo del cometa para evaluar la genotoxicidad de compuestos químicos

Azqueta, Amaya¹; Lopez de Cerain, Adela¹; Collins, Andrew²

¹Departamento de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología, Universidad de Navarra, Irunlarrea 1, 31008 Pamplona, España; ²Departamento de Nutrición, Universidad de Oslo, PO Box 1046 Blindern, 0316 Oslo, Noruega

El ensayo del cometa es ampliamente utilizado en estudios de genotoxicidad. La OCDE contempla su versión *in vivo* en su estrategia para testar la genotoxicidad de compuestos y JaCVAM está llevando a cabo ensayos de validación tanto *in vitro* como *in vivo*.

Este ensayo detecta roturas (y lugares álcali-lábiles) en el ADN pero muchos compuestos que dañan el ADN no producen este tipo de lesión. El uso de enzimas del sistema de reparación del ADN bacteriano en combinación con el ensayo del cometa permite la detección de otras lesiones. Así, la enzima formamido pirimidin DNA glicosilasa (FPG) detecta bases púricas oxidadas y algunas bases alquiladas.

El objetivo de este trabajo es comparar los resultados obtenidos tras estudiar la genotoxicidad *in vitro* de 7 compuestos con el ensayo del cometa con y sin la enzima FPG. Se utilizó un compuesto no citotóxico - ácido etilendiamonitetraacético (EDTA)-, 2 citotóxicos no genotóxicos -triton X-100 y fluometurón- y 4 genotóxicos - benzo[a]pireno (BaP), N-metil-N-nitrosourea (MNU), metilmetanosulfonato (MMS) y 4-nitroquinolina-1-óxido (4NQO)-. Se utilizó la línea celular TK-6, derivada de linfoblastoma humano, y 3 horas de tratamiento. El ensayo fue realizado utilizando el formato de 12 minigeles por portaobjetos y la cámara de incubación de Severn. La citotoxicidad fue medida realizando el ensayo de proliferación celular y calculando los porcentajes de inhibición (IC).

EDTA y fluometurón no indujeron resultados positivos mientras que el Tritón X-100 mostró resultados no concluyentes. MMS y 4NQO produjeron roturas a partir de la IC40 e IC20 respectivamente, mientras que la enzima FPG reveló lesiones a partir de la IC10. BaP mostró un claro aumento de las roturas a partir de la IC80 mientras que la enzima FPG reveló lesiones a partir de una IC0. MNU no indujo roturas a las concentraciones utilizadas (hasta la IC40) pero la enzima FPG reveló lesiones a partir de la IC10. Estos resultados demuestran que el ensayo del cometa en combinación con la enzima FPG mejora su sensibilidad en la detección de compuestos genotóxicos sin afectar a su selectividad.

NOTAS

Aplicación del ensayo del cometa para evaluar el efecto antioxidante de posos de café

Bravo, Jimena; Arbillaga, Leire; de Peña, M. Paz; Cid, Concepción

Departamento de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, Irunlarrea 1, 31008 Pamplona, España

El ensayo del cometa es una técnica sencilla, versátil y económica que se utiliza para medir diferentes tipos de lesiones en el ADN así como su reparación. Este ensayo es ampliamente utilizado en la evaluación de productos químicos, en ecotoxicología y en biomonitorización humana. También puede ser utilizado para evaluar el potencial antioxidante de diferentes compuestos.

Los posos de café que se producen en grandes cantidades en restaurantes, cafeterías y a nivel doméstico, pueden ser una importante fuente de compuestos antioxidantes naturales. En un estudio previo, se seleccionó un extracto acuoso de posos de café arábica procedentes de cafetera de filtro por presentar una elevada capacidad antioxidante en ensayos químicos (ABTS y DPPH).

El objetivo del presente estudio fue evaluar su capacidad antioxidante en la línea celular HeLa tras 2 y 24 horas de exposición. Para ello, se seleccionaron concentraciones no citotóxicas (ensayo de MTT), que no produjeron un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ERO) intracelular (ensayo de la diclorofluoresceína), ni roturas o daño oxidativo en el ADN (ensayo del cometa). Con el fin de evaluar su efecto protector, el ensayo del cometa fue utilizado en células preincubadas con los posos y tratadas con H₂O₂ para producir roturas en el ADN, o con un fotosensibilizador (Ro) para inducir daño oxidativo en el ADN (lugares sensibles a la enzima FPG). Además, se evaluó la protección frente al aumento de ERO producido por el H₂O₂.

El extracto fue capaz de proteger del aumento de ERO producido por el H₂O₂ a una concentración de 1 mg/mL tras 2 horas de exposición y a 333 µg/mL tras 24 horas. Además, a las concentraciones de 333 y 111 µg/mL, las roturas en el ADN también fueron significativamente menores. Sin embargo, el extracto no protegió del aumento de lugares sensibles a FPG a ninguna de las concentraciones ensayadas. Estos resultados animan a continuar la evaluación del efecto protector de este tipo de extractos y demuestran que el ensayo del cometa es una herramienta útil para la evaluación de la capacidad antioxidante de diferentes compuestos.

NOTAS

Sesión IV

Inestabilidad genómica, mutagénesis y carcinogénesis



Discovery of a novel Fanconi anemia gene responsible of three Genome Instability Disorders

Bogliolo, Massimo^{1,2}, **Schuster, Beatrice**³, **Stoepker, Chantal**⁴, **Derkunt, Burak**⁵, **Su, Yan**⁵, **Trujillo, Juan P.**¹, **Minguillón, Jordi**¹, **Ramírez, María J.**^{1,2}, **Pujol, Roser**^{1,2}, **Casado, José A.**^{2,6}, **Baños, Rocío**^{2,6}, **Rio, Paula**^{2,6}, **Knies, Kerstin**³, **Zúñiga, Sheila**⁷, **Benítez, Javier**^{2,8}, **Bueren, Juan A.**^{2,6}, **Schärer, Orlando D.**⁵, **de Winter, Johan P.**⁴, **Schindler, Detlev**³ and **Surrallés, Jordi**^{1,2}

¹Genome Instability and DNA Repair Group, Department of Genetics and Microbiology, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, Spain. ²Centre for Biomedical Network Research on Rare Diseases (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Bellaterra, Barcelona, Spain. ³Department of Human Genetics, University of Wurzburg, Wurzburg, Germany. ⁴Department of Clinical Genetics, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands. ⁵Department of Pharmacological Sciences and Chemistry, Stony Brook University, Stony Brook, New York, USA. ⁶Hematopoiesis and Gene Therapy Division, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid, Spain. ⁷Department of Bioinformatics. Sistemas Genómicos SL, Valencia, Spain. ⁸Human Genetics Group, Spanish National Cancer Center, CNIO, Madrid, Spain.

Fanconi anemia (FA) is a rare chromosome fragility syndrome that uncovered a novel repair mechanism against DNA interstrand cross-links. Fifteen FA genes have been identified but the genetic basis in some FA patients still remains unresolved. Whole exome sequencing was used to identify two unclassified FA patients with biallelic mutations in *XPF*, a nuclease previously connected to xeroderma pigmentosum and segmental XFE progeria. Further genetic, biochemical and functional analysis suggest that the newly identified *XPF* mutations specifically disrupt the function of XPF in interstrand-cross link repair without severely compromising nucleotide excision repair. Our data show that depending on the type of *XPF* mutation patients present with three clinically distinct genome instability disorders, highlighting the multifunctional nature of the XPF protein.

NOTAS

¿Están el arsénico y la ruta Fanconi entrecruzados?

Peremartí, Jana¹; Marcos, Ricard^{1,2}; Hernández, Alba^{1,2}

¹Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Biociències, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Spain; ²CIBER Epidemiología y Salud Pública, ISCIII, Spain

El arsénico (As) es un metaloide proveniente de fuentes naturales o antropogénicas que se encuentra ampliamente diseminado en el medio ambiente. La mayor vía de exposición en humanos es a través del agua potable contaminada con elevadas dosis de As, hecho especialmente importante en países como India, Bangladesh, China, México, Chile o Argentina, entre otros, debido a las condiciones geológicas y/o a las actividades industriales desarrolladas en la zona. La exposición humana al As se ha relacionado con varias enfermedades tales como dermatitis, neuropatías, enfermedades pulmonares, problemas cardiovasculares o diabetes, así como con un gran número de cánceres en distintos órganos (piel, riñón, vejiga, hígado y pulmón). Sin embargo, aún existen muchas incertezas acerca de los efectos genotóxicos que son capaces de ocasionar los compuestos de As, así como los mecanismos mediante los cuales éstos generan sus efectos.

Entre muchas de los efectos genotóxicos que se le atribuyen al As se incluye la capacidad de generar aductos en el DNA. Sin embargo, el papel del As como agente generador de enlaces cruzados intercatenarios (ICLs) no se ha explorado todavía, ni tampoco se conoce si las rutas de reparación que intervienen en la eliminación de este tipo de daño juegan un papel relevante en la toxicidad mediada por el As.

En este trabajo se han utilizado líneas celulares deficientes para algún gen Fanconi (FA) -sensibles a los ICLs- así como sus líneas isogénicas corregidas (FAcorr) para valorar si algunos de los compuestos de As más comunes son capaces de generar ICLs. Para ello, se llevó a cabo un ensayo de supervivencia tras los tratamientos con diferentes dosis de As^{III}, As^V, MMA^{III}, MMA^V y ATO, además de analizar por citometría de flujo si el arsénico induce la parada del ciclo celular en G2, característica de las células FA tratadas con inductores de ICLs. La ubiquitinación del gen FANCD2 de la ruta FA –necesaria para reparar los ICLs- se utilizó para valorar si esta ruta interviene en la reparación de alguno de los tipos de daño ocasionado por los diferentes compuestos de As. Por otra parte, se ha utilizado el ensayo de supervivencia a la mitomicina C (MMC) en las líneas FA/FAcorr previamente expuestas a dosis bajas de As durante una semana para así determinar si éste es capaz de interferir en la reparación de los ICLs como mecanismo de acción genotóxica. Nuestros resultados indican que la ruta FA juega un papel en la reparación del daño generado por los distintos compuestos de arsénico, que las líneas FA muestran menor supervivencia que las líneas FAcorr y que los compuestos de As son capaces de generar el bloqueo en la fase G2 con un efecto dosis-dependiente, poniendo de manifiesto que los ICLs y las rutas de reparación FA y HR son factores a tener en cuenta en el riesgo asociado a la exposición humana al arsénico.

NOTAS

Evaluación del daño genómico en pacientes con insuficiencia renal crónica

Corredor, Zuray¹; Stoyanova, Elitsa¹; Rodríguez-Ribera, Lara¹; Pastor, Susana^{1,3}; Coll, Elisabet²; Silva, Irene²; Marcos, Ricard^{1,3}

¹Grupo de Mutagénesis, Departamento de Genética y de Microbiología, Facultad de Biociencias, Universidad Autónoma de Barcelona; ²Fundación Puigvert, Barcelona. ³CIBER Epidemiología y Salud Pública, Instituto de Salud Carlos III.

La insuficiencia renal crónica (IRC) es una enfermedad que se caracteriza por una pérdida progresiva de la función renal, alcanzando estadios irreversibles donde terapias como la diálisis o el trasplante renal son inevitables.

Investigaciones previas han mostrado que en estos pacientes la generación de sustancias oxidantes, así como el déficit o la pérdida (en diálisis) de sustancias antioxidantes, son las responsables de generar estrés oxidativo y producir daños moleculares, incluido daño en el DNA, por lo que los afectados con IRC se han definido como un grupo que muestra inestabilidad genómica.

Para tener idea de la magnitud del problema, cabe recordar que la incidencia de la IRC es bastante elevada y en España se considera que cerca del 10% de la población española presenta algún grado de enfermedad renal crónica, lo que hace indispensable llevar a cabo estudios de biomonitordeo para identificar tanto factores pronóstico como diagnóstico en estos pacientes.

En este contexto, en la presente comunicación se presentan los resultados obtenidos en la evaluación del daño genómico en un total de 457 individuos de los cuales 162 corresponden a pacientes en pre-diálisis, 103 a pacientes en hemodiálisis, 27 a pacientes con trasplante de riñón y 165 individuos sanos. El análisis de los niveles de daño se ha llevado a cabo en linfocitos de sangre periférica, mediante el ensayo de cometa incluyendo la enzima FPG (formamido-pirimidina ADN glicosilasa) la cual, por su función reparadora, reconoce las bases púricas oxidadas (8-oxoguanina) y las transforma en roturas. De esta manera, el ensayo del cometa nos permite cuantificar los niveles de daño oxidativo presentes en los individuos analizados.

Los resultados nos muestran que existen diferencias estadísticamente significativas entre individuos sanos y pacientes con IRC, tanto a nivel de daño genético basal como de daño oxidativo. También se han observado diferencias entre pacientes con IRC dependiendo de si se encuentran en tratamiento con hemodiálisis o si aun se encuentran en etapas no finales de la insuficiencia renal. Por otro lado también se han observado diferencias en los niveles de daño oxidativo entre los individuos sanos y los pacientes trasplantados. Los niveles de daño oxidativo se correlacionan con algunos de los parámetros clínicos que caracterizan a los pacientes con IRC.

NOTAS

Common genetic variants in pituitary - thyroid axis genes and the risk of differentiated thyroid cancer

Susana Pastor^{1,2}, Abdelmounaim Akdi¹, Eddy R. González¹, Wilser Andrés García-Quispes¹, Esteban Giménez¹, Jessica Arribas¹, Juan Castell³, Josefina Biarnés⁴, Ricard Marcos^{1,2}, Antonia Velázquez^{1,2}

¹Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Spain; ²CIBER Epidemiología y Salud Pública, ISCIII, Spain; ³Servei de Medicina Nuclear, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; ⁴Unidad de Endocrinología, Hospital Josep Trueta, Girona, Spain

Thyroid hormone receptors, THRA and THRB, together with the thyrotropin receptor, TSHR, are key regulators of thyroid function. Alterations in the genes of these receptors (*THRA*, *THRB* and *TSHR*) have been related to thyroid diseases, including thyroid cancer. Moreover, there is evidence suggesting that genetic predisposition to differentiated thyroid cancer (DTC) is related to common genetic variants with low penetrance effect that interact with each other and with environmental factors. In this study we have investigated the association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *THRA* (one SNP), *THRB* (three SNP) and *TSHR* (two SNP) genes with the risk of DTC.

A case-control association study was conducted with 398 patients with sporadic DTC and 479 healthy controls from a Spanish population. Among the polymorphisms studied, only *THRA*-rs939348 was found to be associated with an increased risk of DTC (recessive model, OR = 1.80, 95% CI = 1.03-3.14, p = 0.037). Gene-gene interaction analysis using the genotype data of the present study together with our previous genotype data on *TG* and *TRHR*, indicated a combined effect of the pairwises: *THRB-TSHR* ($P_{\text{interaction}} = 0.0056$, *THRB*-rs844107 with *TSHR*-rs8019570), *THRB-TG* ($P_{\text{interaction}} = 0.04$, *THRB*-rs844107 with *TG*-rs2076740), and *THRB-TRHR* ($P_{\text{interaction}} = 0.006$, *THRB*-rs3752874 with *TRHR*-rs4129682) for DTC risk in a Spanish population.

Our results confirm that *THRA* is a risk factor for DTC, and we show for the first time the combined effect of *THRB* and *TSHR*, *TG* or *TRHR* in DTC susceptibility, supporting the importance of gene-gene interaction in thyroid cancer risk.

NOTAS

Índice de autores



Akdi, Abdelmounaim	63	López-Barea, Juan	37, 39
Abril, Nieves	37, 39, 41	Losada, Ana	21
Alhama-Carmona, José	37	Marcos, Ricard	43, 47, 49, 59, 61, 63
Arbillaga, Leire	53	Minguillón, Jordi	57
Ariza, Rafael R.	27, 29	Montes, María	33
Arribas, Jessica	63	Osuna-Jiménez, Inmaculada	37, 39
Azqueta, Amaya	51	Parrilla-Doblas, Jara	29
Baños, Rocío	57	Pastor, Susana	61, 63
Benítez, Javier	57	Pastoret, Anna	43
Biarnés, Josefina	63	Peremartí, Jana	59
Blanco, Elisa	33	Ponferrada-Marín, María Isabel	29
Bogliolo, Massimo	57	Prieto-Álamo, M ^a José	37, 39
Bravo, Jimena	53	Pueyo, Carmen	37, 39, 41
Bueren, Juan A.	57	Pujol, Roser	57
Casado, José A.	57	Ramírez, María J.	57
Castell, Juan	63	Ramiro-Merina, Ángel	27
Chicano Gálvez, Eduardo	37	Rio, Paula	57
Cid, Concepción	53	Rodríguez, Rubén	31
Coll, Elisabet	61	Rodríguez-Ribera, Lara	61
Collins, Andrew	51	Roldán-Arjona, Teresa	27, 29
Corredor, Zuray	61	Rubio, Laura	49
Corte, Mario	33	Schärer, Orlando D.	57
Costa, María Helena	23	Schindler, Detlev	57
Creus, Amadeu	47, 49	Schuster, Beatrice	57
de Peña, M. Paz	53	Sierra, L. María	31, 33
de Winter, Johan P.	57	Sierra, Marta	33
Derkunt, Burak	57	Silva, Irene	61
Dogliotti, Eugenia	19	Stoepker, Chantal	57
Espina, Marta	33	Stoyanova, Elitsa	61
Fernández-Cisnal, Ricardo	37, 39, 41	Su, Yan	57
Gaivão, Isabel	31	Surrallés, Jordi	57
García-Quispes, Wilser Andrés	63	Trujillo, Juan P.	57
Giménez, Esteban	63	Vales, Gerard	47, 49
Gómez-Ariza, J. Luis	37	Vela, Lourdes	49
González, Eddy R.	63	Velázquez, Antonia	63
Hernández, Alba	43, 59	Vila, Laura	43
Knies, Kerstin	57	Vioque-Fernández, Amalia	39
Lopez de Cerain, Adela	51	Zúñiga, Sheila	57

Directorio de participantes



Nombre	Centro de investigación	Correo electrónico
Abril Díaz, Nieves	Universidad de Córdoba	bb1abdim@uco.es
Arbillaga Lacunza, Leire	Universidad de Navarra	larbillaga@unav.es
Azqueta Oscoz, Amaya	Universidad de Navarra	amazqueta@unav.es
Corredor Mancilla, Zuray	Universidad Autónoma de Barcelona	zurayfer@gmail.com
da Costa, Maria Helena	Universidade Nova de Lisboa	mhcosta@fct.unl.pt
Dogliotti, Eugenia	Istituto Superiore di Sanità. Roma	eugenia.dogliotti@iss.it
Espina Fernández, Marta	Universidad de Oviedo	UO186850@uniovi.es
Fernández Cisnal, Ricardo	Universidad de Córdoba	fecir80@gmail.com
Losada, Ana	CNIO Madrid	alosada@cnio.es
Marcos Dauder, Ricardo	Universidad Autónoma de Barcelona	ricard.marcos@uab.es
Osuna Jiménez, Inmaculada	Universidad de Córdoba	b12osjii@uco.es
Parrilla Doblas, Jara Teresa	Universidad de Córdoba	b52padoj@uco.es
Pastor, Susana	Universidad Autónoma de Barcelona	susana.pastor@uab.es
Peremartí Brosel, Jana	Universidad Autónoma de Barcelona	jana_pb@hotmail.com
Ramiro Merina, Ángel	Universidad de Córdoba	b22ramea@uco.es
Rodríguez González, Rubén	Universidad de Oviedo	rubengr88@hotmail.com
Trujillo Quintero, Juan Pablo	Universidad Autónoma de Barcelona	juanpablo.trujillo@uab.cat
Vales Segura, Gerard	Universidad Autónoma de Barcelona	gerard.vales@uab.es
Vila Vecilla, Laura	Universidad Autónoma de Barcelona	lauravilavecilla@hotmail.com

RED IBEROAMERICANA DE TOXICOLOGÍA Y SEGURIDAD QUÍMICA



XX Congreso Español de Mutagénesis Ambiental
Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental
Universidad de Córdoba. 2-4 julio 2012



Nº 38



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA



Pillco A. Herrero O. Gutierrez R. Escalante P. Cavieres F. Font G. de la Peña E.

Comité Español de Toxicología IUTOX-ICSU <http://ritsq.org>

En Chile en agosto de 2006 – en el Congreso de ALATOX se constituyó la Comisión Promotora de la RITSQ

Spain (ES)	8,382
Mexico (MX)	2,431
Colombia (CO)	1,411
Argentina (AR)	1,210
Peru (PE)	1,171
Venezuela (VE)	933
United States (US)	927
Chile (CL)	731
Bolivia (BO)	365
Puerto Rico (PR)	362
Ecuador (EC)	312
Brazil (BR)	185
Uruguay (UY)	161
Panama (PA)	124
France (FR)	120
Costa Rica (CR)	119
United Kingdom (GB)	103
Germany (DE)	102
Netherlands (NL)	94
Portugal (PT)	82

Tabla 1	2008
Actividades Anunciadas	2012
Congresos	26
Reuniones	40
Cursos	31
Legislación	13
Otros	47

La Red Iberoamericana de Toxicología y Seguridad Química tiene entre sus Objetivos los siguientes:

Coordinar la participación de los diferentes grupos existentes en universidades y organismos de investigación de Iberoamérica, implicados en estudios relacionados con la Toxicología; **Fortalecer** la colaboración y el intercambio académico entre los programas de Doctorado y Maestría de diferentes países iberoamericanos que tengan como objeto el estudio y la investigación en Toxicología o áreas relacionadas; **Favorecer** la realización de proyectos de investigación conjuntos entre docentes e investigadores de Iberoamérica, pasantías estudiantiles y eventos académicos; **Profundizar** en el estudio de métodos de ensayo de corta y larga duración utilizados en la evaluación de la carcinogenicidad, la mutagenicidad y la toxicidad para la reproducción de sustancias y productos químicos; **Desarrollar** y estandarizar métodos analíticos para la identificación y determinación de biomarcadores de exposición, efecto y susceptibilidad para sustancias y productos químicos en el hombre y el medio ambiente.; **Aplicar** métodos de evaluación del riesgo para la salud humana y el medio ambiente de sustancias y productos químicos; **Fomentar** el intercambio científico de profesionales interesados en Toxicología Ambiental, Clínica, Forense, Analítica y Seguridad alimentaria; y **Promover** el uso de métodos alternativos a la experimentación animal.

Se han celebrado dos Reuniones de la RITSQ en Montreal, Canadá IUTOX 2007 y Barcelona, España IUTOX 2010 ; y presentados **37** carteles: 2 Argentina, 2 Brasil, 1 Bolivia, 1 Canadá, 2 Colombia, 4 Chile, 1 Cuba, 2 EEUU, 11 España, 1 Francia, 5 México, 2 Portugal, 1 Perú, 1 Suecia y 1 Uruguay. La han visitado desde el 21 marzo de 2010 a 13 de junio de 2012: **23.885** y desde el 19 de marzo de 2008: **42.615**; La RITSQ tiene 749 Registrados y se han anunciado varios eventos entre Congresos, Reuniones y otras actividades (Tabla 1)

Registrarse gratuitamente <http://ritsq.org>

La RITSQ desea ser un catalizador de la Toxicología en Iberoamérica

Organiza



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



IMIBIC

INSTITUTO MAIMÓNIDES DE
INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA
DE CÓRDOBA

Colabora

Genoma
España



Rabanales 21

PARQUE CIENTÍFICO
TECNOLÓGICO DE CÓRDOBA



AYUNTAMIENTO
DE CÓRDOBA



Asociación
de Amigos
de los Patios
Cordobeses

BIO-RAD

VWR 

c.viral
Especialistas en Biología Molecular y Celular

www.uco.es/sema2012

