



**BAG**  
Journal of  
Basic & Applied Genetics

---

## COMUNICACIONES LIBRES

---



**FG**

**FARMACOGENÉTICA**



## FG 1

### CYTO AND GENOTOXIC EFFECTS OF A COMPLEX OF CU(II) WITH NORFLOXACIN IN CELL CULTURE. THEORETICAL STUDY

Di Virgilio AL<sup>1,2</sup>, IE León<sup>1,2</sup>, CA Franca<sup>2</sup>, SB Etcheverry<sup>1,2</sup>.  
<sup>1</sup>Cátedra de Bioquímica Patológica, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, La Plata, Argentina, <sup>2</sup>CEQUINOR (CONICET-UNLP), La Plata, Argentina.  
 e-mail: aldivirgilio@biol.unlp.edu.ar

Norfloxacin is a member of the fluoroquinolone group of antibiotics used in the treatment of bacterial infections. Interactions between quinolone-metal complexes and DNA can be responsible for pharmacological effects on mammalian cells. Therefore, a deeper insight into the biological properties of these complexes is important for a better understanding of their therapeutic efficacy. We studied the potential antitumoral action of a complex of Norfloxacin with Cu(II), Cu(Nor)<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O on rat osteosarcoma (UMR106) and mouse calvaria derived (MC3T3-E1) cells, evaluating its cyto- and genotoxicity. By a theoretical study, we have also elucidated the more stable conformation of the complex under physiological conditions. Cu(Nor)<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O caused an inhibitory effect on the proliferation of both cell lines from 300 μM (p<0.01). The decline on UMR106 cell proliferation was more pronounced than in MC3T3-E1. Cu(Nor)<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O altered lysosomal metabolism (Neutral Red assay) in a dose-response manner from 300 μM (p<0.001). Morphological studies showed important transformations that correlated with a decrease in the number of cells. Moreover, Cu(Nor)<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O caused statistically significant genotoxic effects (*Micronucleus assay*) on both osteoblast cell lines in a lower range of concentrations (p<0.05 at 10 μM, p<0.001 from 25 μM). The dose related genotoxic effect occurred from 5 to 25 μM and from 5 to 10 μM in UMR106 and MC3T3-E1 cells, respectively. Altogether, these results suggest that Cu(Nor)<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O is a good candidate to be further evaluated for alternative therapeutics in cancer treatment.

## FG 2

### PREDICTORES GÉNETICOS DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C (HCV) EN ARGENTINA

Trinks J<sup>1</sup>, A Frías<sup>2</sup>, A AVECILLA<sup>2</sup>, C Sotelo<sup>2</sup>, O Torres<sup>2</sup>, A Gadano<sup>3</sup>, D Flichman<sup>4</sup>, P Argibay<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Básicas y

Medicina Experimental (ICBME), Hospital Italiano de Buenos Aires, <sup>2</sup>Servicio de Hemoterapia, Hospital Materno Infantil "Ramón Sardá", <sup>3</sup>Servicio de Hepatología, Hospital Italiano de Buenos Aires, <sup>4</sup>Cátedra de Virología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

e-mail: julieta.trinks@hospitalitaliano.org.ar

El HCV causa hepatitis crónica y puede evolucionar a cirrosis y hepatocarcinoma. La tasa de respuesta al tratamiento en las infecciones con el genotipo 1, el más prevalente en Argentina, es del 46-52%. Recientemente en los genes IL28B e ITPA se han descrito SNPs (polimorfismos de nucleótido único) predictores de la respuesta terapéutica. Objetivo: Caracterizar la frecuencia de estos SNPs en población sana residente en Argentina. P&M: Se reclutaron voluntarios anti-HCV negativos no relacionados entre sí: i) argentinos (n=228; 50,4% hombres; edad 43,2±17,7 años) de Buenos Aires provenientes del Banco de ADN del Hospital Italiano de Buenos Aires; y ii) inmigrantes (n=187; 15,5%; 28,5±6,6) latinoamericanos (74% Bolivia; 14% Paraguay; 12% Perú). Los SNPs rs7270101A>C, rs1127354C>A (ITPA) y rs12979860C>T (IL28B) fueron genotipificados por secuenciación bidireccional. Resultados: Con respecto a IL28B, se observó la homocigosis CC -vinculada a la respuesta terapéutica favorable- en 52,4% de los argentinos (vs. 40,6% de los inmigrantes; p<0,01), 35% CT (vs. 34,4%) y 12,6% TT (vs. 25%; p<0,001); mientras que respecto a ITPA, se detectó la homocigosis CC y AA para ambas variantes -asociada al riesgo de anemia hemolítica- en el 73,4% de los argentinos (vs. 94,7% de los inmigrantes; p<0,001). Los resultados de los argentinos fueron similares (p>0,05) a los ya reportados para la etnia europea. Conclusiones: Estos resultados preliminares reflejan la importancia de caracterizar previamente estas variantes a fin de evaluar el costo-beneficio del tratamiento según el origen del paciente.

## FG 3

### GENES METABOLIZANTES XENOBIÓTICOS Y GENES RELOJ: ANÁLISIS DE GENOTIPOS EN CÁNCER DE MAMA

Cerliani MB<sup>1</sup>, JJ Chiesa<sup>2</sup>, SM Richard<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE, CIC-CONICET), <sup>2</sup>Laboratorio de Cronobiología, Departamento de Ciencia y Tecnología - Universidad Nacional de Quilmes.



e-mail: bele\_cerliani@hotmail.com

Existe una estrecha relación entre el sistema circadiano, el ciclo celular y el metabolismo de fármacos y procarcinógenos. Los patrones diarios de expresión de enzimas metabolizantes xenobióticas, junto a las variantes alélicas que presentan los genes reloj y los genes metabolizantes xenobióticos (GMX), afectan procesos celulares relevantes en el desarrollo tumoral. Se evaluó la asociación entre genotipos de genes reloj y GMX, en pacientes con cáncer de mama. Se analizaron 65 muestras de tumores mamarios y 63 muestras control, del Banco de ADN del IMBICE. Mediante PCR y PCR-RFLP se determinaron los genotipos de los genes reloj Clock (*SNP rs1801260*) y Per3 (*VNTR AB047536*), y de los GMX Gstt1 (polimorfismo *null*) y Nat2 (alelos acetiladores rápidos/intermedios/lentos). Los datos se analizaron en tablas 2x2; se testeó desequilibrio de ligamiento. Se encontró riesgo elevado de enfermedad asociado al genotipo Gstt1 *null* (OR=5; IC95% 1,33-18,73); no siendo así con Clock (OR=0,61; IC95% 0,30-1,25), Per3 (OR=0,67; IC95% 0,33-1,39) y Nat2 (OR=0,72; IC95% 0,36-1,47). La estratificación de las muestras según fenotipo de metabolización (por polimorfismos de Nat2 y Gstt1), indicó que no hay correlación entre polimorfismos de GMX y genes reloj, que modifique el riesgo de enfermedad. Determinados alelos de Nat2 se encontraron en desequilibrio de ligamiento con alelos de Clock y Gstt1 ( $p < 0,05$ ), sólo en los tumores, indicando que algunas combinaciones alélicas se presentan con frecuencia en los individuos afectados, lo que podría tener un impacto en el desarrollo del cáncer.

FG 4

#### EVALUACION GENOTÓXICA *IN VIVO* DEL EXTRACTO DE UNA PLANTA *Helietta apiculata* (RUTACEAE) EN MÉDULA ÓSEA DE RATÓN

Yaluff G<sup>1,2</sup>, ME Ferreira<sup>1</sup>, N Vera<sup>1</sup>, MA Ferreira<sup>1</sup>, N Portillo<sup>1</sup>, Z Pankow<sup>2</sup>, A Segovia<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS)-Universidad Nacional de Asunción (UNA), Asunción-Paraguay, <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FaCEN-UNA), Asunción-Paraguay, <sup>3</sup>Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT-UNA) Asunción-Paraguay.

e-mail: gloriayaluff@yahoo.com

La leishmaniasis es una enfermedad infecciosa provocada por un parásito denominado leishmania. En la actualidad las drogas utilizadas para el tratamiento de las leishmaniasis cutánea y visceral

humana son tóxicas. En los últimos años se han abocado a la búsqueda de productos naturales y sintéticos para encontrar nuevos agentes terapéuticos que no presenten reacciones colaterales. En la búsqueda de estos compuestos en plantas paraguayas, con la especie *Helietta apiculata* (*Rutaceae*) vegetal, se demostró que compuestos aislados del extracto presenta actividad leishmanicida *in vivo*. En el presente estudio y teniendo como antecedente los resultados de esta actividad leishmanicida, se evaluaron los efectos genotóxico y citotóxico sobre el modelo murino *in vivo* del extracto crudo de *Helietta apiculata* determinando el riesgo de daño ante una eventual exposición en humanos. En una primera etapa se realizó el estudio de los efectos secundarios tanto genotóxicos como citotóxicos a través del Test de Micronúcleo y según la relación de EritrócitoPolicromático/ Eritrócito Normocromático en células de médula ósea. El análisis estadístico mostró que no hay manifestación de efectos genotóxicos dado por la frecuencia de eritrocitos inmaduros micronucleados(MN) ni efectos de citotoxicidad a nivel de médula ósea, dada por la relación entre eritrocitos policromáticos y normocromáticos comparados con el control positivo. En estas concentraciones de evaluación el extracto no induce un aumento significativo de micronúcleos en las células de los ratones ni una disminución de la relaciónEPC/EN.

FG 5

#### Vkorc Y LA EFICACIA DE LOS RODENTICIDAS EN *Mus musculus* DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Firmenich VE<sup>2</sup>, VA León<sup>2</sup>, M Busch<sup>2</sup>, MB Espinosa<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Fundación PROSAMA. Paysandú 752-C1405ANF-CABA, <sup>2</sup>Departamento de Ecología, Genética y Evolución, FCEyN-UBA. e-mail: mariabespinosa@gmail.com

Se propuso como causa de la resistencia a los rodenticidas la aparición de mutaciones en el gen *Vkorc1*. Analizamos la presencia de mutaciones que producen sustituciones de Tyr139Cys y Leu128Ser en VKORC de *Mus musculus* de granjas donde se utilizan anticoagulantes (bromadiolona, warfarina) como control de plagas. A partir de ADN genómico de 20 *Mus musculus* capturados en la Provincia de Buenos Aires (34°16" S; 59°13" W), se amplificó mediante PCR la región *Vkorc1*. La secuenciación se realizó en el Instituto de Biotecnología del INTA. El análisis de los tres exones del gen (hecho con el programa Megablast, NCBI) mostró una similitud de



entre 75 y 99% con la secuencia depositada en la base de datos: NT 039433.7, *Mus musculus* C57BL/6J; cromosoma 7. Este resultado se obtuvo para secuencias desde 36 a 315 bases que corresponden a *Vkorc* de *Mus musculus*. No encontramos mutaciones en los individuos analizados. Si bien las secuencias obtenidas cubren parcialmente la región *Vkorc1*, creemos que de hallarse SNPs estarían en baja frecuencia.

FG 6

### POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE MTHFR 677 Y 1298 EN POBLACION VENEZOLANA DE DIFERENTE ORIGEN ÉTNICO

Chacín M<sup>1</sup>, S Ferraz<sup>1</sup>, A Rivas<sup>1</sup>, G Suárez<sup>1</sup>, M Bravo-Urquiola<sup>1</sup>, S Montilla<sup>1</sup>, G García<sup>1</sup>, D Velázquez<sup>2</sup>, A Arends<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Investigación de Hemoglobinas Anormales, Instituto Anatómico "José Izquierdo", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, <sup>2</sup>Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Caracas, Venezuela.  
e-mail: mchacin50@hotmail.com

El estudio de los polimorfismos de Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) es relevante debido a que se han observado asociados a ciertas enfermedades, sin embargo se han reportado diferencias en cuanto a la frecuencia de estos en diferentes grupos étnicos. La presente investigación se llevó a cabo con la finalidad de determinar la frecuencia de los polimorfismos genéticos de la enzima MTHFR 677 y 1298 en 259 individuos sanos, pertenecientes a diferentes grupos étnicos venezolanos, utilizando la técnica PCR-RFLP. La frecuencia de los alelos mutados para MTHFR 677 y 1298 en población general fue de 55,21% y 34,50%, respectivamente. El alelo mutado de MTHFR 677 fue más frecuente en afrodescendientes y el alelo MTHFR 1298 estuvo presente principalmente en venezolanos caucásicos. En indígenas la frecuencia de ambos alelos fue la más baja o no estuvo presente. Fue importante determinar las frecuencias de estos polimorfismos debido a que la mutación 677C>T está asociada con un riesgo de 2 a 4 veces mayor de sufrir defectos del tubo neural y los polimorfismos en el alelo 1298A>C incrementan el riesgo de neoplasma cérvico en mujeres con multi-embarazos, además se han encontrado asociados con el riesgo a padecer leucemia, daños cerebrovasculares, cardiopatías y hendidura palatina, algunas de estas muy frecuentes en Venezuela. Estos estudios sentarán las bases que permitirán evaluar la relación de la presencia de estos polimorfismos con la susceptibilidad a padecer alguna de estas enfermedades.

Trabajo financiado por FONACIT MC200700166, MC2008001053, ECOSNORD PI200500758.

FG 7

### POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE MTHFR 1298 Y 677 EN PACIENTES CON LEUCEMIA

Ferraz S<sup>1</sup>, M Chacín<sup>1</sup>, J Angulo<sup>1</sup>, V Araujo<sup>1</sup>, S Montilla<sup>1</sup>, M Bravo<sup>1</sup>, G García<sup>1</sup>, D Velásquez<sup>2</sup>, A Arends<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Investigación de Hemoglobinas Anormales, Instituto Anatómico Dr. José Izquierdo, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, <sup>2</sup>Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Caracas, Venezuela.

e-mail: alantoides28@hotmail.com

El gen MTHFR codifica la enzima encargada de proveer los grupos metilo a la célula por la conversión de 5-10 metilentetrahidrofolato a 5-metiltetrahidrofolato, forma circulante del folato. Se han descrito los polimorfismos C677T y A1298C asociados con la disminución de su actividad enzimática, afectando el metabolismo de folato intracelular. Concentraciones bajas de folato han sido relacionadas con el riesgo de padecer cáncer. Las células hematopoyéticas son altamente susceptibles a cambios en la disponibilidad de folato durante su desarrollo. Por este motivo se determinaron las frecuencias de polimorfismos C677T y A1298C en un grupo de pacientes venezolanos con leucemia. Se obtuvo el ADN de 102 pacientes con leucemia del Servicio de Hematología del HUC para realizar el genotipaje de MTHFR C677C y A1298C, mediante la técnica PCR-RFLP. Se obtuvo una frecuencia genotípica para MTHFR 1298 de 52% A/A, 47% A/C y 2% C/C, siendo más frecuente el genotipo homocigoto normal (A/A) en pacientes con LLA, LMA y LLC, y el genotipo heterocigoto (A/C) en pacientes con LMC. La frecuencia genotípica de MTHFR 677 obtenida fue de 56% C/T, 33% C/C y 11% T/T, siendo el genotipo heterocigoto (C/T) el más frecuente en pacientes con LLA, LMA, LMC, y LLC. Este estudio es pionero en pacientes con leucemia en la población venezolana, sugiriendo que podría existir una relación entre la presencia de los polimorfismos MTHFR 1298 y MTHFR 677 y la susceptibilidad de desarrollar leucemia. Financiamiento FONACIT MC-2007001066 MC-2008001053.

FG 8

### POLIMORFISMOS DEL GEN MDR1 EN LA ASOCIACION PCT-VIH

Melito V<sup>1,2</sup>, V Parera<sup>1</sup>, MV Rossetti<sup>1,2</sup>, A Batlle<sup>1</sup>, AM Buzaleh<sup>1,2</sup>,



J Lavandera<sup>1</sup>. <sup>1</sup>CIPYP, CONICET, Hospital de Clínicas, UBA, <sup>2</sup>Departamento de Química Biológica, FCEN, UBA.

e-mail: rossetti@qb.fcen.uba.ar

La Porfiria Cutánea Tardía (PCT) es la más frecuente en Argentina (1:25000); se desencadena por distintos factores incluyendo fármacos. En nuestro país el 13% de los PCT son portadores del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). El gen de resistencia a múltiples drogas (MDR1) codifica para la glicoproteína de membrana P-gp que actúa como transportador dependiente de ATP de numerosos xenobióticos y antirretrovirales. El polimorfismo de nucleótido simple (SNP) c.3435 C>T presente en el exón 26 afecta la expresión de P-gp y la respuesta frente a drogas. Previamente se estudió la frecuencia de polimorfismos del CYP3A5 y CYP2B6 en individuos PCT y PCT-VIH sin encontrar una asociación significativa. El objetivo fue evaluar la incidencia del polimorfismo del gen MDR1 en la asociación PCT-VIH. La genotipificación del exón 26 se realizó por PCR-RFLP. La frecuencia genotípica en los grupos estudiados fue: control: CC=34,6% (18/52); CT=61,5% (32/52) y TT= 3,9% (2/52); PCT: CC=13,8% (3/26); CT=51,7% (14/26) y TT=34,5% (9/26) y PCT-VIH: CC=11,1% (5/27); CT=55,6% (15/27) y TT=33,3% (9/27). La frecuencia génica del alelo polimórfico fue 0,35 (control); 0,62 (PCT) y 0,54 (PCT-VIH). Se observaron diferencias significativas entre el grupo control y los grupos PCT ( $p<0,001$ ) y PCT-VIH ( $p<0,05$ ), indicando mayor prevalencia de la mutación en individuos con PCT; no hubo diferencia significativa entre los grupos PCT y PCT-VIH. Este resultado indicaría una posible influencia del SNP c.3435 C>T en el desencadenamiento de la PCT independientemente de la infección por VIH.