

# MCTA

## MUTAGÉNESIS, CARCINOGENÉNESIS Y TERATOGENÉNESIS AMBIENTAL



## EL COMPUESTO ANTITUMORAL BLEOMICINA INDUCE ELEMENTOS CROMOSÓMICOS INCOMPLETOS Y FRAGILIDAD TELOMÉRICA EN CÉLULAS HUMANAS LINFOBLASTOIDEAS

Sedelli F.<sup>1,2</sup>, E. Cálcena<sup>1,2</sup>, D. Castrogiovanni<sup>1</sup>, A. Sánchez Dova<sup>1</sup>, S. Richard<sup>1,2</sup>, A. Bolzán<sup>1,3</sup>. <sup>1</sup>IMBICE, La Plata, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad Nacional de Quilmes, Quilmes, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina. f.sedelli@gmail.com

Los telómeros son complejos nucleoproteicos localizados en los extremos de los cromosomas eucarióticos, que están involucrados en la preservación de la integridad de los mismos. La bleomicina (BLM) es un antibiótico antitumoral de acción clastogénica conocida, cuyos efectos específicos sobre los telómeros son poco conocidos. El objetivo de este trabajo fue determinar si la BLM induce inestabilidad telomérica *in vitro* en células humanas. Se utilizó una línea celular linfoblastoidea generada a partir de un cultivo primario de linfocitos de sangre periférica inmortalizados con el virus de Epstein-Barr. Las células fueron tratadas durante 2 horas a 37 °C con concentraciones crecientes de BLM (10-200 µg/ml) y se analizaron las aberraciones cromosómicas (AC) teloméricas y no teloméricas a las 24 horas postratamiento, utilizando la técnica de Hibridación *In Situ* Fluorescente con sondas pantelomérica y pancentromérica de tipo PNA (*Peptide Nucleic Acid*). Se observó una inducción significativa de AC no teloméricas, elementos cromosómicos incompletos y duplicaciones de señales teloméricas en las células tratadas con BLM en comparación con las células no expuestas al antibiótico ( $p < 0,01$ ). Los resultados obtenidos a partir de dos experimentos independientes indican que, en células humanas linfoblastoideas, la BLM induce inestabilidad telomérica, la cual se manifiesta a nivel cromosómico en forma de pérdida de extremos cromosómicos (produciendo cromosomas incompletos y fragmentos terminales) y fragilidad telomérica (produciendo duplicación de señales teloméricas).

## EFFECTOS GENOTÓXICOS DE LA CO-SUPLEMENTACIÓN *IN VITRO* CON SULFATO DE ZINC Y DE COBRE EN LINFOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA HUMANA

Mantella M.<sup>1</sup>, R.C. Gambaro<sup>2</sup>, A. Seoane<sup>2</sup>, G. Padula<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), La Plata, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET) (CONICET-UNLP), La Plata, Argentina. melimantella@hotmail.com

El cobre (Cu) y el zinc (Zn) son micronutrientes esenciales. La concentración plasmática Cu/Zn es uno de los parámetros asociados con la reducción de la homeostasis frente a un evento desestabilizador, cuando existen niveles insuficientes de los mismos puede disminuir la actividad de enzimas requeridas para la estabilidad genómica. Se analizó el efecto combinado de la suplementación *in vitro* con sulfato de zinc (SO<sub>4</sub>Zn) y de cobre (SO<sub>4</sub>Cu), en linfocitos de sangre periférica de donantes sanos. Las células fueron cultivadas durante 5 días y se realizaron 8 tratamientos: 1) control negativo; 2) control positivo (bleomicina); 3) control deficiente (medio quelado: HF12Q); 4) control de Zn (180 µg/dl SO<sub>4</sub>Zn); 5) control de Cu (165 µg/dl SO<sub>4</sub>Cu); 6) combinado 1 (HF12Q + 180 µg/dl SO<sub>4</sub>Zn + 78 µg/dl SO<sub>4</sub>Cu); 7) combinado 2 (HF12Q + 180 µg/dl SO<sub>4</sub>Zn + 165 µg/dl SO<sub>4</sub>Cu); 8) combinado 3 (HF12Q + 180 µg/dl SO<sub>4</sub>Zn + 250 µg/dl SO<sub>4</sub>Cu). Se determinó el Índice de daño (ID) a través del ensayo Cometa. Para el análisis estadístico se utilizaron ANOVA y Test de Múltiples Rangos. Se observaron frecuencias de ID significativamente aumentadas a medida que la proporción Cu/Zn se incrementó ( $P < 0,001$ ). La combinación 1 presentó una frecuencia similar a la del control negativo, mientras que la frecuencia de la combinación 3 fue semejante a la del control positivo. En esta investigación se utilizaron las concentraciones del rango fisiológico normal establecido para niños, por ello se torna importante la revisión de dicho rango teniendo en cuenta la importancia de la interacción entre estos micronutrientes.

## LA AUSENCIA DE ATAXIA- TELANGIECTASIA MUTADA (ATM) Y POLI (ADP-RIBOSA) POLIMERASA-1 (PARP-1) AUMENTAN LA SENSIBILIDAD A ETOPÓSIDO EN CÉLULAS HUMANAS

Llorens T.<sup>1</sup>, M. Palmitelli<sup>1</sup>, M. de Campos Nebel<sup>1</sup>, M. González Cid<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Medicina Experimental (IMEX), CONICET-Academia Nacional de Medicina, CABA, Buenos Aires, Argentina.  
margoncid@gmail.com

Etopósido (ETO) es una droga antitumoral que induce rupturas de doble cadena (RDC) y se asocia al desarrollo de neoplasias secundarias. Las mutaciones en ATM y la vía alterna de reparación de RDC dependiente de PARP-1 estimulan rearrreglos cromosómicos y tumorigénesis. Se evaluó el rol de ATM y PARP-1 en provocar la muerte de células HeLa tratadas con ETO. Las células silenciadas en PARP-1 indujeron la activación espontánea de pSer1981ATM en relación a su control, NS (no-silenciadas) ( $p < 0,0001$ ). El ciclo de células silenciadas en ATM (ATMkd) en presencia del inhibidor de PARP-1 (BYK204165, 10 $\mu$ M) se analizó a las 24, 48 y 72 horas postratamiento con ETO 2  $\mu$ g/ml por citometría de flujo. ETO generó una acumulación en G2/M del ~60% en ATMkd, alcanzando un ~70% en BYK204165+ETO ( $p = 0,001$ ); siendo en NS del 20% con o sin el inhibidor. Se examinó el daño cromosómico persistente a los 6 días. El 55% de las células ATMkd mostraron aberraciones cromosómicas (rupturas cromosómicas y dicéntricos) postratamiento con BYK204165+ETO en comparación al 18% en NS igualmente tratadas. La sobrevida de células ATMkd frente a dosis crecientes de ETO (0,05-1  $\mu$ g/ml) se examinó mediante el ensayo clonogénico a los 14 días. Se observó que, en presencia de BYK204165, las células ATMkd son hipersensibles a ETO en relación a NS ( $p < 0,01$ ). Así, la ausencia de ATM junto a la inhibición de PARP-1 condujo a una incrementada inestabilidad genómica y posterior muerte de células expuestas a ETO. Esto permitiría desarrollar regímenes terapéuticos combinados para actuar sobre determinados tumores sin dañar a las células normales.