

15.-BIBLIOGRAFIA (indicar título del libro, autor, Editorial y año de publicación)

I *Se detalla en la guía de T.P.*
II
III

FECHA: *3 de mayo de 1955*

FIRMA PROFESOR: *Mudry* FIRMA DIRECTOR:

Aclaración firma: *MARTA Dolores MUDRY* Aclaración: **DRA: MARTA D. MUDRY**
DIR. GIBE - PROF. ASOC. UBA
INV. IND. COMCET.

NOTA: Para la validez de la información presentada se solicita que todas las páginas estén inicialadas y firmadas al final por el Señor Director del Departamento/Instituto/Carrera o Responsable del Área correspondiente y debidamente selladas y fechadas.

NOTA: Se recuerda que los objetivos y los contenidos mínimos están incluidos en el Plan de Estudio respectivo y sólo son modificables por Resolución del Consejo Superior de la Universidad de Buenos Aires.-

Prof. Adj. MARTA ANA CARBALLO
SECCION CITOGENETICA HUMANA
DEPTO. BIOQUIMICA CLINICA
F. F. y B U. B. A

Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - UBA

**GENETICA TOXICOLÓGICA: BIOMONITOREO
CON ENSAYOS DE CORTO PLAZO**

Curso Teórico-Práctico

FCEyN/FFyB- UBA
II Cuatrimestre 1999

GENETICA TOXICOLOGICA: BIOMONITOREO CON ENSAYOS DE CORTO PLAZO

Curso teórico práctico con evaluación final para biólogos, bioquímicos, farmacéuticos, veterinarios, agrónomos, médicos y todo otro egresado o alumno de último año de carreras de disciplinas afines a la Licenciatura en Cs. Biológicas, Farmacia y Bioquímica. Este curso está preparado para aquellos interesados en actualizarse sobre el uso y alcances de ensayos de corto plazo en modelos animales y vegetales para el monitoreo de exposición a agentes de potencialidad genotóxica.

Duración del curso: Un cuatrimestre . (70hs.)

Horario: Días viernes de 17 hs 30 a 21 hs.

Docentes :

Grupo colaborativo de investigación y docencia - GIBE-CIGETOX - de las FCEyN y FFyB (UBA).

Responsable por FCEyN: Dra. Marta Dolores Mudry, Prof. Asociado (DE) de la FCEyN, UBA y miembro de la Carrera de Inv. Científico de CONICET (Inv. Independiente). Director del GIBE (Grupo de Investigación en Biología Evolutiva). Depto de Biología de la FCEyN, UBA.

Docencia, Seminarios y TP

Responsable por FFyB: Farm. Marta Ana Carballo, Prof. Adjunto (DE) del Depto. De Bioquímica Clínica de la FFyB, UBA. Director del CIGETOX (Centro de Inv. en Genética Toxicológica). Jefe del Laboratorio de Citogenética. División Genética. Htal. De Clínicas "José de San Martín"

Docencia, Seminarios y TP

Colaboradores:

Dr. Enrique Zamorano Ponce, Prof. Asociado del Depto de Ciencias. Depto. de Biología, Univ. Del Bio-Bio, Chillán, Chile (Prof. Visitante)

Docencia, TP

Dr. Miguel D'Aquino, Prof. Emérito de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Higiene y Sanidad. Depto de Sanidad, Nutrición, Bromatología y Toxicología. FFyB UBA. (Prof visitante)

Docencia

Lic. Ana María Palermo, (CITEFA) Investigador asistente coordinador de la Investigación de teratogénesis y recombinogénesis en *Drosophila* en el GIBE, FCEyN, UBA

Docencia, Seminarios y TP

Biog. Marcela López Niore, Doctoranda del CIGETOX. Ayudante 1ª Citogenética Humana FFyB, UBA

Seminarios y TP

Lic. María Alicia Gorostiaga, Doctoranda del GIBE, FCEyN, UBA y Miembro de la Carrera de Personal Profesional de Apoyo de CONICET (Técnica Principal)

Seminarios y TP


Lic. Nancy Beatriz Andrioli, Investigador asistente del GIBE, FCEyN, UBA

Seminarios y TP

Lic. Raquel Vázquez González, Investigador asistente del GIBE, Ayudante 1ª Biología CBC, UBA

Seminarios y TP


Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - UBA


APROBADO POR RESOLUCION CD 924/95

Dr. Arturo Federico Wulff Profesional Principal del CONICET. Jefe de Trabajos
Prácticos Area Genética y Paleobiología. FCEyN, UBA
Seminarios y TP



Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - USA



Programa teórico:

- Genotoxicidad. Generalidades. Mutagenicidad. Tipos de agentes. Niveles de análisis. Ensayos de corto y largo plazo para la evaluación de daño. Teratogénesis. Carcinogénesis. Principales teorías. Evaluación de daño inducido o espontáneo. Biomonitorio y bioindicadores de exposición. Estudios "in vivo" e "in vitro". Niveles de complejidad creciente. Características y alcances del modelo "in vitro". Parámetros biológicos, citogenéticos e inmunológicos. El empleo del cultivo de tejidos en el análisis de genotoxicidad. El uso de las líneas de crecimiento continuo como sustrato de diferentes genotóxicos. El ejemplo de las líneas Vero y CHO.
- Los ensayos de corto plazo en los estudios de Genética Toxicológica. Las bacterias como primer nivel de complejidad en los ensayos de corto plazo (STT) para monitoreo ambiental. Test de Ames: Ventajas y controversias. Generalidades de modelos "in vivo": Roedores. El valor del modelo de cepa endo y exocriada en diferentes ejemplos de uso tradicional (ratón y rata). Otros modelos alternativos de especies autóctonas provenientes del estado salvaje. Estudios en especies de fauna, sus ventajas y riesgos. Exposición espontánea e inducida. El recurso de ejemplares procedentes de regiones endémicas para monitoreo de exposición a xenobióticos.
- Modelos biológicos y reconocidos como organismos centinelas. Precauciones y proyecciones del monitoreo. Primates. El uso en medicina veterinaria y humana. La utilidad del modelo para inferencias en otros niveles de organización incluidos humanos. Parámetros mínimos para el conocimiento adecuado del modelo primate según los objetivos de monitoreo. El caso de los Monos de Nuevo y Viejo Mundo: similitudes y diferencias. Ventajas y desventajas.
- Análisis de daño por exposición dirigida. Clastogenicidad y carcinogénesis secundaria. Fragilidad del genoma. Sitios frágiles y predisposición carcinogénica. Cinética celular como indicador para biomonitorio de exposición ambiental o individual. Exposición a genotóxicos químicos y/o físicos. La sangre periférica como sustrato para evaluar exposición. Análisis de aberraciones cromosómicas. Citotoxicidad y citostaticidad. Cinética celular como indicadores de exposición. Alteraciones numéricas y estructurales: aneuploidías y reordenamientos, su relación con los agentes inductores.
- El modelo de *Drosophila* en el análisis de alteraciones de la recombinogénesis y/ o del desarrollo embrionario. Test de SMART: su utilidad y alcances. Test de recombinación y mutación somática. Ensayo en alas y en ojos. Tipos de cepas. La influencia de la temperatura en el mantenimiento y análisis de las exposiciones. Ejemplos de exposiciones dirigidas a diferentes agentes químicos.
- El modelo de *Allium cepa* en el monitoreo ambiental. Diferentes espectros toxicológicos: ecotoxicidad y genotoxicidad. Efectos sobre el ciclo celular. Su evaluación mediante los índice de fases, la relación anafase-telofase y el índice mitótico. Evaluación de daño cromosómico. Estructuras relacionadas: aberraciones cromosómicas, puentes mitóticos, fragmentos, micronúcleos. Diferencias en la aplicación de las técnicas. Alcances del método en la evaluación toxicológica y el estado de los ambientes naturales. Sensibilidad del modelo en relación a otros test. Comparación con el modelo de ratón y de humanos. Ventajas y desventajas. Limitaciones del modelo. Factibilidad de utilización como recurso educativo.

Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - USA



Programa de Trabajos prácticos:

Los alumnos trabajarán cada uno por equipos, según el número, con preparados que realizarán como parte del TP o bien que les serán suministrados por el equipo docente. El trabajo que implique uso de fotografías, las mismas se les suministrarán oportunamente en su carpeta personal de TP.

Trabajo Práctico: 1

Observación al microscopio óptico de preparados metafásicos de fibroblastos de riñón de Mono Verde africano (*Cercopithecus Aethiops*) En la Línea Vero con tinción estándar, se harán la determinación de Índice mitótico (IM), $2n$ y niveles de ploidía; morfología cromosómica y marcadores Bandas G y C.

Trabajo Práctico: 2

Test de micronúcleo en Médula ósea de ratón, su utilidad y alcances. Determinación de frecuencias en ratones control *Mus* (cepa CFW), *Ctenomys*, *Rattus norvegicus* y exposición a agentes químicos. Inestabilidad cromosómica y agentes clastógenos. Observación de metafases con coloración estándar. Determinación de $2n$. Mostración de ICH y determinación de ciclo celular. Análisis de IM o IR. Caracterización de la de cinética celular de un cultivo de linfocitos de referencia.

Trabajo Práctico: 3


Observación al microscopio óptico de preparados con metafases con tinción estándar de linfocitos de sangre periférica de diferentes primates de Nuevo Mundo y Humano. Determinación de $2n$, IM. Discusión de variaciones en el IM por exposición a agentes genotóxicos. Mostración del armado de cariotipo humano y su comparación con el de un primate mediante la comparación de metafases con Bandas G.

Trabajo práctico: 4

Observación a la lupa de preparados montados de alas *Drosophila melanogaster* para el análisis de individuos control y expuestos a un posible genotóxico. Explicación de la metodología de trabajo según guía adjunta reconocimiento de tablas de registro de frecuencia.

Trabajo práctico :5

Observación al microscopio óptico de preparados realizados en meristemas de raíz de *Allium cepa*. Reconocimiento de las distintas fases. Análisis de anafases. Cálculo del índice mitótico y de la relación anafase-telofase. Observación identificación y cuantificación de aberraciones cromosómicas en preparados y mediante microfotografías. Uso de tablas de registro. Discusión de hallazgos en valoración de efluentes contaminantes.


Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - USA



Programa de Seminarios

Cada alumno dispondrá en su Guía de TP de una Guía de lectura que deberá contestar antes de entrar al seminario y entregar a modo de evaluación parcial del día.

Seminario: 1:

Exposición y Discusión de una publicación sobre la caracterización citogenética y utilidad de líneas celulares en monitoreo biológico.

Seminario: 2

Discusión de una publicación sobre actualización en Test de Micronúcleo. Discusión de datos sobre alteración de desarrollo embrionario en hembras de *Rattus norvegicus* (Cepa *Sprague dawley*) expuestas a agentes genotóxicos físicos y químicos.

Seminario: 3

El ejemplo de *Saimiri sciureus* y la exposición a agentes químicos. La variabilidad en animales de bioterio a través de un comentario bibliográfico. El ejemplo de *Cebus apella* y la exposición a agentes físicos. Discusión de los hallazgos en relación a Rayos X.

Seminario: 4

Monitoreo mediante el uso de especies vegetales. Evaluación de genotoxicidad en desechos industriales y cloacales. El ensayo de micronúcleo y el test de anafase-telofase en *Allium cepa*, *Tradescantia* y sus posibilidades.

Seminario: 5

Monitoreo en organismos superiores: Mutación somática y recombinación en *Drosophila melanogaster*. Bases genéticas del tratamiento con mutógenos. Biomonitoreo en poblaciones expuestas a contaminantes ambientales.


Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - USA



Contenidos Mínimos y cronograma de Actividades

- Genotoxicidad. Generalidades. Mutagenicidad. Tipos de agentes. Niveles de análisis. Ensayos de corto y largo plazo para la evaluación de daño inducido. Estudios "in vivo" e "in vitro". Líneas celulares. Características y alcances del modelo "in vitro". Parámetros biológicos, citogenéticos e inmunológicos. El uso de las líneas de crecimiento continuo como sustrato para el estudio de diferentes genotóxicos. El ejemplo de línea Vero.
- Exposición y Discusión de publicaciones sobre Caracterización citogenética y Utilidad de líneas celulares en monitoreo biológico.
- Observación al microscopio óptico de preparados metafásicos de fibroblastos de riñón de Mono Verde africano (*Cercopithecus Aethiops*) conocido como Línea Vero con tinción estandar, determinación de Índice mitótico, 2N y niveles de ploidía; morfología cromosómica y marcadores. Bandas G y C.

GUIA DE LECTURA

1-"Líneas Celulares"

Trabajos a comentar:

- 1- Matayoshii, T. et al.: "Identificación de una línea celular por técnicas de Bando cromosómico". *Mendeliana* 1 (2) :105-114, 1976.
- 2- De Salum, S. et al.: "Análisis citogenético de Líneas Celulares Vero". *Medicina* 38:513-518, 1978.
- 3- Popescu, N.C. et al.: "Integration sites of human papillomavirus 18 DNA sequences on HeLa cell chromosomes". *Cytogenet. Cell Genet.* 44:58-62, 1987.

Cuestionario de orientación que responderá (por escrito) distribuyendo las actividades por equipos:

- 1- Qué entiende Ud. por línea celular?
- 2- Qué es un marcador cromosómico y cómo se lo identifica?
- 3- Discuta brevemente qué metodologías le permitirían distinguir dos líneas celulares entre sí. Ejemplifique.

Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - USA



4- Luego de la lectura de estos cuatro trabajos qué puede comentar acerca de las metodologías empleadas en cada caso?

5- En base a qué características citogenéticas puede clasificar diferentes líneas celulares? Dé al menos 3 ejemplos.

6- Qué mecanismos aseguran el mantenimiento de las líneas celulares "in vitro"? Ilustre el concepto a partir de los artículos leídos.


DR. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - USA



- Roedores. El valor del modelo de cepa endo y exocriada en diferentes ejemplos de uso tradicional (ratón y rata o línea celular CHO), otros modelos alternativos de especies locales en estado salvaje. Exposición espontánea e inducida. El recurso de ejemplares procedentes de regiones endémicas para monitoreo de ciertas exposiciones biológicas, físicas y/o químicas como organismos centinelas de contaminación. Precauciones y proyecciones del monitoreo. Análisis de daño inducido por exposición dirigida. Fragilidad del genoma. Sitios frágiles y predisposición a daño.
- Test de micronúcleo en Médula ósea, su utilidad y alcances. Discusión de una publicación sobre actualización en Test de Micronúcleo. Discusión de datos sobre alteración de desarrollo embrionario en hembras de *Rattus norvegicus* (Cepa *Sprague dawley*) expuestas a agentes genotóxicos físicos y químicos (Rayos X y nitroimidazoles)
- *Mus* (cepa CFW), *Ctenomys*, *Rattus norvegicus* y exposición a agentes químicos. Inestabilidad cromosómica y agentes clastógenos. Observación de metafases con coloración estándar. Determinación de 2n. Mostración de ICH y ciclo celular. IM e IR. Análisis de cinética celular.

GUIA DE LECTURA

2-"Biomonitoreo y ensayos de corto plazo (Short Term Tests)"

Trabajos a comentar:

1-Salamone, M.F. et al. Bone marrow micronucleus assay: a review of the mouse stocks used and their published mean spontaneous micronucleus frequencies. *Environ. Mol. Mutag.* 23: 239-273, 1994.

2-Cimino, M.C. et al. Aneuploidy in mammalian somatic cells in vitro. *Mutat.Res.* 167:107-122, 1986

3-Massarini, A. et al. Evolution of the species of the genus *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae). *Marmosiana* 24-42, 1995

Cuestionario de orientación que se responderá (por escrito) distribuyendo las actividades por equipos.

1- Recuerde el alcance de los siguientes términos: Mutagénico, teratogenicidad, carcinogenicidad, clastógeno, control positivo y control histórico, citostaticidad, índice de replicación, aneuploidías.


 Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
 DIRECTOR ADJUNTO
 Dpto. Cs. Biológicas
 FCE y N - USA



2- Compare brevemente las aplicaciones de los ensayos de corto plazo vs los de largo plazo.

3- Haga un listado de las ventajas y desventajas del uso de modelos "in vivo" e "in vitro". Justifique con ejemplos su respuesta.

4- El roedor y el ensayo de micronúcleo: Enuncie las características del modelo que avalan su uso en biomonitoreo genotóxico.

5- Compare el uso de cepas de bioterio y el de roedores de fauna procedentes de su hábitat natural.

6- En estos trabajos Ud accede a 3 modelos de roedores como son: **Mus**, **Rattus** y **Ctenomys** puede Ud. enunciar las principales diferencias entre ellos y su incidencia en la elección para estudios de monitoreo genotóxico?


Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - USA



- Primates. El uso en medicina veterinaria y humana. La utilidad del modelo para inferencias en humanos. El conocimiento adecuado del modelo primate. El caso de los Monos de Nuevo y Viejo Mundo, similitudes y diferencias. Exposición a genotóxicos químicos. La sangre periférica como sustrato de exposición. Parámetros para analizar aberraciones cromómicas y/o cinética celular como indicadores de exposición. Alteraciones numéricas y estructurales. Aneuploidías y reordenamientos.
- El ejemplo de *Saimiri sciureus* y la exposición a agentes químicos. El ejemplo de *Cebus apella* y la exposición a agentes físicos. Discusión de los hallazgos expuestos en publicaciones de reciente redacción en consideración en revistas internacionales.

GUIA DE LECTURA

3-"El modelo Primate en el estudio de biológicos"

Trabajos a comentar:

1-Stone, W.H. et al. Genetic significance of some common primate models in biomedical research. Animal Models: assesing the scope of their use in biomedical research, 73-93, 1987, De. Alan R. Liss, Inc.

2-Ayers, K.M. et al. Non clinical toxicology studies with Zidovudine: acute, subacute and chronic in rodent, dogs and monkeys. Fundam. and Applied Toxicology 32:129-139, 1996.


Cuestionario de orientación que responderá (por escrito) distribuyendo las actividades por equipos.

1- Qué valor le asigna Ud. al modelo Primate en el monitoreo de genotóxicos? Justifique su respuesta.

2- Cómo ha variado en los últimos 15 años, el empleo de monos en estudios de toxicidad?

3- Qué ensayos considera para organizar una batería mínima de validación de agente mutagénicos en la que considere el nivel primate? Proponga un modelo alternativo de estudio.


4-Cuál es la relevancia que ud le asigna al modelo primate en los estudios experimentales de genotoxicidad?. Justifique su respuesta.


 Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
 DIRECTOR ADJUNTO
 Dpto. Cs. Biológicas
 FCE y N - USA



5-Considera usted que en una evaluación de genotoxicidad la utilización de sistemas metabólicos semejantes es útil desde el punto de vista de la interpretación de resultados? Porqué?

6- Compare desde el punto de vista de modelos biológicos ventajas y desventajas del empleo de monos de Nuevo o de Viejo Mundo.


Dr. CLAUDIO R. LAZZARI
DIRECTOR ADJUNTO
Dpto. Cs. Biológicas
FCE y N - USA

