

Biomarcadores de daño genético en aves silvestres

De la reserva de biosfera de Ñacuñán - Mendoza

Vet. Arnoldo Ángel Martín Quero

Laboratorio de Genética, Ambiente y Reproducción (GenAR), Universidad Juan Agustín Maza

Resumen

La ecogenotoxicología es una subdisciplina que aplica los conceptos, principios y técnicas de la genética y la toxicología para conocer los efectos que pueden producir los contaminantes ambientales e inferir la calidad de los ecosistemas con proyección a la salud ambiental. Los biomarcadores de daño genético son los cambios bioquímicos, fisiológicos o morfológicos medibles que se producen en un sistema biológico, pues alteran la composición y el metabolismo del material genético, ya sea por causas espontáneas o como reflejo de la exposición a un agente extraño al ser vivo o xenobiótico, tanto de origen físico, químico o biológico. Los organismos vivos que manifiestan estas alteraciones pueden ser considerados como bioindicadores de salud ambiental.

Los micronúcleos (MN) son considerados biomarcadores de efecto y daño genético, generados por la acción de sustancias genotóxicas que actúan a nivel subcelular. Este biomarcador puede ser medido con técnicas citogenéticas y el incremento de la frecuencia de micronúcleos en las células se considera una respuesta temprana de daño cromosómico. Se considera micronúcleo a todo cuerpo extranuclear conformado por cromatina perteneciente a cromosomas enteros o fragmentos cromosómicos que fallaron en la incorporación dentro del núcleo principal durante la mitosis. Conjuntamente con el ensayo de MN, en el ensayo citoma se han analizado otros cambios en la morfología del núcleo celular como posibles marcadores de daño al ADN y a la cariocinesis. De este modo, se han podido observar alteraciones denominadas puentes nucleoplásmicos, brotes nucleares, binucleaciones y colas nucleares.

Dentro de la escala zoológica, peces e invertebrados son los grupos en los que se ha podido analizar la mayor parte de la información para los estudios anteriormente nombrados. En menor escala algunas investigaciones han sido realizadas utilizando aves como unidades descriptivas de biomonitorio, frente a sucesos que podrían conllevar un impacto en el medio ambiente y los ecosistemas. De esta forma, las aves cumplirían el rol de centinelas, en donde puede obtenerse información de base y relevante sobre procesos y medidas de evaluación en las áreas de impacto ambiental.

La detección de biomarcadores podría proporcionar una herramienta útil en el monitoreo y detección del

daño genético ocasionado por contaminantes en el ambiente, y siendo que su hallazgo podría ser considerado de efecto temprano, permitiría detectar un nivel de daño cuando todavía es reversible. Por ello, el objetivo del presente proyecto fue aportar conocimientos para la posible utilización de biomarcadores de daño genético en aves como bioindicadores de calidad ambiental, con el enfoque de reconocer los tipos de biomarcadores presentes en eritrocitos de sangre periférica y sus frecuencias de presentación.

El muestreo fue realizado en la Reserva de Biosfera de Ñacuñán (34°03'S - 67°54'O), departamento de Santa Rosa- Mendoza, perteneciente a la región fitogeográfica del monte central, durante los meses de Agosto y Noviembre. Para la captura de las aves fueron utilizadas 15 redes de niebla (12 m x 3 m, con un tamaño de malla de 34 mm). Se identificaron las aves por género y especie según la descripción realizada en la guía de identificación de aves de Narosky y Yzurieta (2010). Fueron muestreados un total de 41 aves: 13 *Elaenia albiceps*, 20 *Zoonotrichia capensis hypoleuca* y 8 *Zoonotrichia capensis australis*. // Se obtuvo una gota de sangre a partir del extremo distal de la uña del dedo medio del pie del ave para la realización de un frotis sanguíneo sobre un portaobjetos de vidrio. Los extendidos fueron aireados y fijados por inmersión en metanol absoluto durante 30 segundos. La coloración del material sanguíneo fue realizada con coloración de Giemsa (Merck) en una dilución 1:10 en agua destilada durante un intervalo de tiempo entre los 5 a 8 minutos y luego fueron secados a temperatura ambiente. Se analizaron 2000 eritrocitos maduros en cada frotis sanguíneo y fueron registradas en una planilla de anotaciones y fotografiadas todas las células que presentaron micronúcleos y otras alteraciones. // Cada uno de los biomarcadores fue reconocido teniendo en cuenta los criterios establecidos por diferentes autores. Se estimaron las frecuencias medias y los desvíos estándares para cada alteración nuclear por especie. Mediante el test no paramétrico de Kruskal-Wallis se analizó la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las frecuencias de cada alteración nuclear a nivel interestadístico. Además, utilizando el Test de Pearson con tablas de contingencia, se evaluó la posible relación entre la aparición de cualquiera de las tres alteraciones más frecuentes: MN, brotes nucleares y células binucleadas ($p < 0,05$).

En las muestras de sangre de los *Passeriformes* estudiados pudieron ser identificados 5 tipos de alteraciones nucleares (Figura 1).

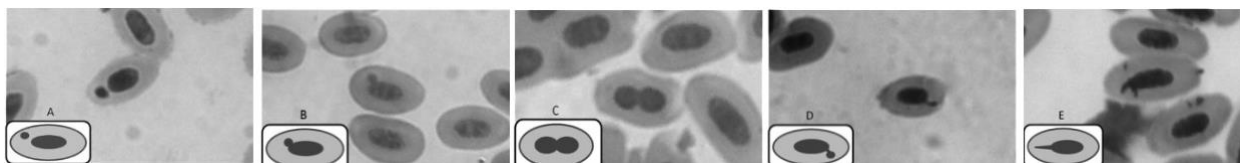


Figura 1. Alteraciones nucleares observadas en eritrocitos de sangre periférica con coloración Giemsa en *Passeriformes* de la Reserva de Biosfera de Ñacuñán, Mendoza. (A) Eritrocito con Micronúcleo; (B) Eritrocito con brote nuclear; (C) Eritrocito binucleado; (D) Eritrocito con puente nucleoplásmico; (E) Eritrocito con colas nucleares

Las frecuencias con que fueron observadas cada una de estas alteraciones nucleares se presentan en la Tabla I. Las frecuencias son expresadas como N° de alteraciones nucleares/1000 eritrocitos analizados. Entre las frecuencias de MN, brotes nucleares y células binucleadas en las especies de aves en estudio, no se encontraron diferencias entre los valores de 2 especies diferentes de *Passeriformes*. Del mismo modo, no se detectó asociación entre la aparición conjunta de 2 biomarcadores diferentes.

Alteraciones	<i>Z. c. hypoleuca</i> (n= 20)	<i>Z. c. australis</i> (n= 8)	<i>E. albiceps</i> (n=13)
Micronúcleos	0,50 ± 0,11	0,56 ± 0,18	0,46 ± 0,15
Brotes nucleares	0,33 ± 0,11	0,25 ± 0,09	0,27 ± 0,09
Cel. Binucleadas	0,25 ± 0,10	0,38 ± 0,18	0,35 ± 0,12
P. nucleoplásmicos	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,06	0,04 ± 0,04
Colas nucleares	0,05 ± 0,03	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Tabla II- Frecuencia de micronúcleos y alteraciones nucleares (cada 1000 eritrocitos) en sangre periférica de aves de la Reserva de Biosfera de Ñacuñán (± SD)

La metodología utilizada y la aplicación del ensayo de micronúcleos y ensayo citoma en sangre periférica, ha resultado ser útil en aves autóctonas. Esto las posiciona como potenciales indicadores biológicos de daño genético, ya que se halló una importante variedad de biomarcadores y pudieron ser estimadas frecuencias de presentación para cada una. Se reportan por primera vez tasas basales de MN y alteraciones nucleares para aves de las especies *Zoonotrichia capensis* y *Elaenia albiceps*. Puede suponerse que los valores estimados son tasas basales para cada especie en el ambiente estudiado siendo que las aves muestreadas provienen de una reserva de Biosfera, considerado un ecosistema prístino y sin exposición aparente a agentes genotóxicos. // Los resultados presentados son valiosos si se pretende evaluar y comparar exposición a campo o experimental de agentes genotóxicos en *Passeriformes*, como así también, si el objetivo es analizar el efecto que podría causar el ambiente en las especies en estudio, pero en distintas latitudes geográficas.