



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza

Trabajo de Fin de Grado en Veterinaria

Bioindicadores en la evaluación de la exposición y los efectos tóxicos inducidos por contaminantes ambientales.

Bioindicators to evaluate the exposure and toxic effects induced by environmental pollution.

Autor:

Maidier Martín de Miguel

Director:

Natalia Guillén Monzón

Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza

Septiembre, 2021

*A mi familia, la de sangre y
la de no, a los que siguen conmigo y
a los que me esperan al otro lado,
por apoyarme siempre. Bihotzez,
eskerrik asko.*

ÍNDICE

RESUMEN/ABSTRACT.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
1. La Ecotoxicología y su relación con el concepto <i>One Health</i>	2
2. La contaminación ambiental y los metales pesados.....	2
3. Papel de los bioindicadores y los biomarcadores en la gestión medioambiental.....	8
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	10
METODOLOGÍA.....	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
1. Bioindicadores en ecosistemas acuáticos.....	12
1.1. Invertebrados.....	12
1.2. Vertebrados.....	15
2. Bioindicadores en ecosistemas terrestres.....	21
2.1. Invertebrados.....	21
2.2. Vertebrados.....	22
CONCLUSIONES/CONCLUSIONS.....	31
VALORACIÓN PERSONAL.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	34

RESUMEN

La contaminación ambiental supone un riesgo para la salud de los ecosistemas y los seres vivos que habitan en ellos, incluidos los humanos, ya que se asocia con múltiples enfermedades como el cáncer, trastornos cardiovasculares, respiratorios, neurológicos, etc. Los metales pesados como el mercurio, el arsénico, el cadmio y el plomo son tóxicos, persisten en la naturaleza y se bioacumulan y biomagnifican en la cadena trófica. Los animales silvestres y domésticos pueden desempeñar el papel de bioindicadores para monitorizar el estado de salud de su entorno, para así preservar la salud de todos los seres vivos y también su biodiversidad.

Muchos trabajos coinciden en la relevancia de las especies centinela para evaluar la exposición y los daños ocasionados por los metales pesados en los organismos, tanto de forma aguda como crónica, ya que estas son sensibles a los xenobióticos de su entorno, poseen una amplia distribución, permiten la toma de muestras y presentan múltiples similitudes biológicas con el ser humano. Estas se encuentran en todos los niveles de la pirámide trófica, y gracias al desarrollo y uso de biomarcadores es posible evaluar el daño ocasionado por las sustancias tóxicas y llevar a cabo programas de protección medioambiental, todo ello dentro del concepto *One Health*.

ABSTRACT

Environmental pollution poses a risk for the health of ecosystems and the living beings that inhabit them, including humans, as it is associated with multiple diseases such as cancer, cardiovascular, respiratory and neurological disorders, etc. Heavy metals such as mercury, arsenic, cadmium and lead are toxic, persistent in nature, and bioaccumulate and biomagnify in the food chain. Wild and domestic animals can play the role of bioindicators to monitor the health status of their environment, to preserve the health of all living things and also their biodiversity.

Many studies agree on the relevance of sentinel species to evaluate the exposure and damage caused by heavy metals in organisms, both acute and chronic, due to the fact that they are sensitive to xenobiotics in their environment, have a wide distribution, easy sampling and their multiple biological similarities with humans. These are found at all levels of the trophic pyramid, and the development and use of biomarkers makes possible to evaluate the damage caused by toxic substances and carry out environmental protection programmes, supporting the *One Health* concept.

INTRODUCCIÓN

1. La Ecotoxicología y su relación con el concepto *One Health*

La Ecotoxicología se define como “Ciencia que estudia los efectos tóxicos provocados por los contaminantes sobre los ecosistemas” (RAE, 2014), y está considerada una ciencia multidisciplinar y dinámica que se centra en el estudio de la exposición, la acumulación y los efectos secundarios que producen los agentes estresores del medio ambiente a diferentes niveles, desde el molecular hasta el ecosistema al completo. Este campo ha pasado por múltiples etapas a la vez que han ido surgiendo nuevos descubrimientos científicos, y ha integrado muchas ramas de la ciencia como son la Bioquímica, la Fisiología o la Bioestadística, pero sobre todo la Ecología y la Toxicología como su propio nombre indica (Tlili y Mouneyrac, 2021).

Además, podría decirse que se encuentra en una carrera constante contra los nuevos compuestos químicos que crean los seres humanos y que vierten al medio ambiente (Tlili y Mouneyrac, 2021), y he aquí su vital relación con el concepto *One Health* o “Una sola salud”: según la Organización Mundial de la Salud (OMS), *One Health* es “un enfoque concebido para diseñar y aplicar programas, políticas, leyes e investigaciones en el que múltiples sectores se comunican y colaboran para lograr mejores resultados de salud pública.”. Dicho de otra manera, puede entenderse como una forma global de ver la salud animal, medioambiental y humana, ya que todos están conectados y lo que afecte a uno acabará afectando al resto. En este aspecto, la Ecotoxicología cumple un papel muy importante, ya que su principal objetivo es desarrollar herramientas para conocer mejor el destino y los efectos secundarios de los contaminantes en la biosfera. Para comprenderlo mejor, un ejemplo de “una sola salud” sería tomar medidas para prevenir, controlar y/o erradicar enfermedades zoonóticas emergentes, como ocurrió en 2006 con la crisis de la Influenza/Gripe aviar (cepa H5N1).

Aunque dentro de la idea *One Health* exista la preocupación sobre muchos factores como la resistencia a antibióticos por un uso inadecuado, las enfermedades zoonóticas emergentes o la contaminación ambiental, en esta revisión bibliográfica se hablará exclusivamente de ese último, concretamente de la contaminación por metales pesados, y del lugar que ocupan las especies bioindicadoras en esa gestión.

2. La contaminación ambiental y los metales pesados

La contaminación ambiental puede entenderse como toda introducción de elementos físicos, químicos o biológicos en el medio ambiente que no le son propios, y que son

consecuencia en su mayoría de acciones humanas. Dentro del grupo de los elementos químicos, la revolución industrial (1760-1840) fue un momento de grandes avances, como el desarrollo de las industrias siderúrgicas y mineras, y en consecuencia se introdujeron muchos nuevos compuestos con posibles efectos perjudiciales para el medio ambiente. Entre esos elementos se encuentran los metales pesados, eje principal de este trabajo.

Los metales pesados se definen como “elementos metálicos con una masa atómica superior a 20 y una densidad superior a 5g/cm^3 ” (Beck et al., 2020). Al igual que otros agentes de contaminación química, son altamente persistentes en el medio ambiente y tienen la capacidad de desplazarse de un lugar a otro. Estos desplazamientos pueden realizarlos a través de la fauna y la flora, pero también a través del aire, tierra y agua hasta llegar a lugares en los que jamás se han utilizado ni se han producido. Pueden encontrarse en su forma inorgánica/elemental (la forma natural que procede de emisiones volcánicas, erosión de rocas y minerales) o en su forma orgánica (procedente en su mayoría de acciones humanas industriales y principal fuente de contaminación de los ecosistemas) (Figura 1) (AESAN, 2015; Razak et al., 2021).

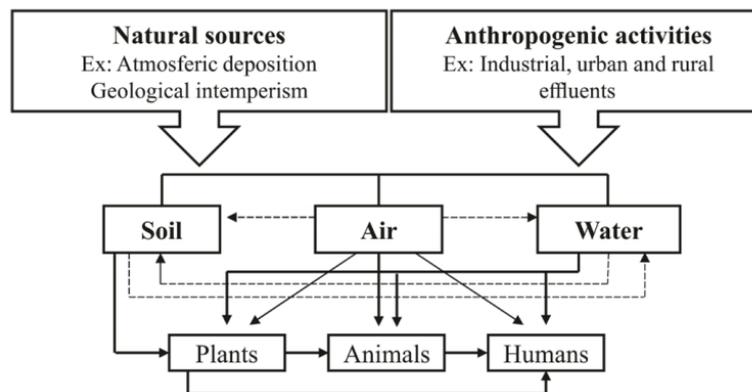


Figura 1. Fuentes y vías de llegada de los metales pesados al medio ambiente (Loureiro y Bazzoli, 2021)

En cuanto a su toxicidad, los metales pesados pueden producir efectos secundarios de dos maneras, la aguda y la crónica: la toxicidad aguda ocurre cuando un ser vivo se ve expuesto a cantidades demasiado elevadas de una sustancia en un periodo de tiempo breve, y la toxicidad crónica es aquella que se produce por una exposición continuada a lo largo de la vida con o sin bioacumulación de pequeñas cantidades en el organismo, y cuyos efectos secundarios se ven a largo plazo. Las investigaciones en Ecotoxicidad contemplan ambas situaciones, y también hacen una distinción entre los metales pesados esenciales (fisiológicamente necesarios para el correcto funcionamiento del metabolismo de los seres vivos) de los no esenciales (aquellos que

no participan en ninguna función biológica) para cada especie, aunque los esenciales también pueden ser perjudiciales si se encuentran en niveles muy por encima o por debajo de los fisiológicos (AESAN, 2015).

Para concretar un poco más, a continuación se describirá de forma escueta el origen, la vía de exposición, el mecanismo de acción, la toxicidad y los efectos secundarios de cuatro metales pesados, el arsénico, el cadmio, el mercurio y el plomo, debido a su alta toxicidad y riesgo para la salud humana, animal y medioambiental. Su toxicidad depende de muchos factores como la forma química, la dosis, la vía de exposición, la duración de dicha exposición, la edad del ser vivo, su género, su genética y su estado de salud general, entre otros (Jaishankar et al., 2014):

- **Arsénico (As):** su origen natural son las erupciones volcánicas y la erosión del suelo, mientras que su origen antropogénico son la producción de insecticidas, herbicidas, fungicidas, alguicidas, conservantes de madera, tintes... (Jaishankar et al., 2014, AESAN, 2021). La principal vía de exposición para los seres humanos es la dieta o el agua contaminada (AESAN, 2021), un problema importante en ciertos países subdesarrollados (se calcula que la dosis diaria ingerida ronda los 50 microgramos), aunque también se ven expuestos por inhalación y por contacto (Tchounwou et al., 2012). La Unión Europea (UE) ha establecido unos límites máximos permitidos en el arroz y productos derivados como medida preventiva, para evitar una exposición demasiado elevada por parte de la población, ya que este metal también se concentra en el suelo y puede ser absorbido por las plantas. Del mismo modo, también ha establecido un límite para el agua de bebida de consumo humano (10 µg/L) (AESAN, 2021). Se ha demostrado que la exposición crónica a As produce enfermedades cardiovasculares, perivasculares, anomalías del desarrollo, desórdenes neurológicos y del comportamiento, diabetes, pérdida de audición, desórdenes hematológicos... y se ha relacionado con tumores de piel, hígado, riñón y vejiga (Tchounwou et al., 2012). La forma inorgánica está clasificada dentro del Grupo 1 (carcinogénico para los humanos) del IARC (*International Agency for Research on Cancer*), mientras que la forma orgánica está dentro del Grupo 2B (posiblemente carcinógeno para los humanos) (IARC, 2021).

En cuanto a su mecanismo de acción, una de las formas más tóxicas es la inorgánica y es capaz de inactivar más de 200 enzimas uniéndose a los grupos tiol y sulfhidrilo (ocasionando, además, problemas de respiración celular y mitosis) (Jaishankar et al., 2014) y sustituyendo al Fósforo. Además, este metal también inhibe la reparación del ADN, induce aberraciones cromosómicas, altera la expresión de genes y de proteínas, modula la síntesis del ADN y los

mecanismos de apoptosis. Parece que pudieran existir diferentes mecanismos que participen en la carcinogénesis inducida por arsénico. (Tchounwou et al., 2012).

- **Cadmio (Cd):** este metal se encuentra en fuentes naturales como rocas sedimentarias y fosfatos marinos (Tchounwou et al., 2012; AESAN, 2020). En la industria se emplea para fabricar pigmentos, baterías, aleaciones, fertilizantes... (Sassia et al., 2021) y las vías de exposición principales son la inhalatoria (por tabaco, principalmente) y la ingesta (sobre todo con dietas que contienen frutas, verduras, crustáceos, moluscos...), aunque en ocasiones se ha visto también la absorción a través de la piel (Tchounwou et al., 2012). Los crustáceos y los hongos son acumuladores naturales de este metal, de modo que hay que tener especial cuidado con su consumo (AESAN, 2020) y las plantas también pueden acumularlo a través de la tierra. Se ha relacionado con enfisema pulmonar, pérdida de olfato, osteoporosis... (Sassia et al., 2021) observando una mayor incidencia en la población fumadora que en la no fumadora. 15-30 minutos después de una exposición aguda aparecen síntomas como dolor abdominal, ardores, náuseas, vómitos, salivación excesiva, espasmos musculares, vértigo, pérdida de consciencia y convulsiones. Además, su exposición crónica produce adenocarcinomas pulmonares, tumores adrenales, testiculares, prostáticos, renales, gástricos, hematopoyéticos y hepáticos (Tchounwou et al., 2012; Sassia et al., 2021).

En cuanto a su mecanismo de acción, se cree que está relacionado con la aparición de especies reactivas de oxígeno (ROS) que producen daños en la cadena de ADN e interrumpen la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. Además, también bloquea los canales de calcio, inhibe enzimas, degrada proteínas, activa citoquinas y oncogenes (*c-fos*, *c-jun*, *c-myc*) y produce mutaciones/delecciones en los pares de bases del ADN (Tchounwou et al., 2012).

- **Mercurio (Hg):** este metal puede encontrarse en la naturaleza en 3 formas distintas, la forma elemental/metálica, la inorgánica y la orgánica (principalmente metilmercurio), y cada una de ellas posee una toxicidad determinada (Tchounwou et al., 2012; AESAN, 2020). Es ubicuitario en el medio ambiente, de modo que todos los seres vivos están expuestos a cierta dosis sin que ello suponga ningún riesgo para la salud (siempre y cuando no se superen los niveles inocuos) (Jaishankar et al., 2014). Su uso antropogénico reside en la industria eléctrica, la producción de sosa cáustica, antifúngicos, disolventes, incineradoras... y la principal vía de exposición para los seres humanos es a través del consumo de pescado y marisco contaminados, ya que el Hg llega a ríos y mares desde fuentes naturales y vertidos industriales (*Figura 2*) (Tchounwou et al., 2012; AESAN, 2020). Una vez el pescado es

ingerido, el Hg se absorbe en el tracto digestivo y se acumula en el tejido renal, cerebral y hepático, provocando enfermedades en esos órganos. Además, en los individuos gestantes puede llegar hasta el feto y provocar alteraciones del desarrollo (Tchounwou et al., 2012).

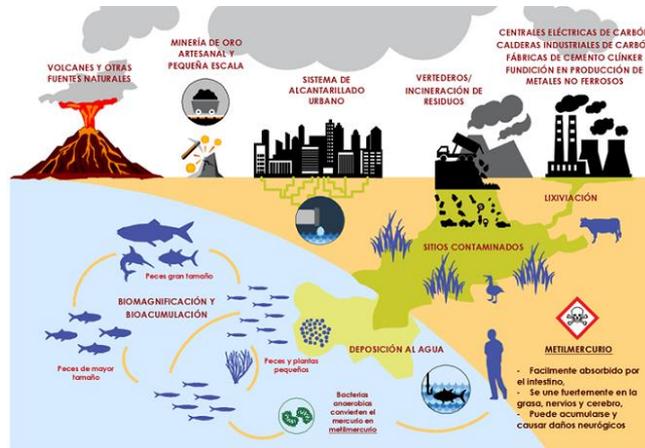


Figura 2. Ciclo de vida del mercurio (Ministerio para la transición ecológica y el reto demográfico, 2021)

En cuanto a su mecanismo de acción, produce estrés oxidativo a través de ROS, inhibición enzimática, daño mitocondrial, neurotoxicidad e interferencia en la homeostasis del calcio aumentando su concentración en el espacio intracelular (Jaishankar et al., 2014). Además, afecta a los orgánulos de las células alterando sus funciones biológicas y las ROS parecen estar detrás de la aparición de múltiples tumores. Se ha comprobado que las poblaciones expuestas a este metal tienen niveles superiores de Glutatión (un antioxidante que protege a las células de los radicales libres) (Figura 3) en sangre que las poblaciones no expuestas, algo que ocurre con los cuatro metales pesados que se están describiendo, y que la exposición también está relacionada con un aumento del índice mitótico y de aberraciones poliploides, ambas causas de carcinogenicidad (Tchounwou et al., 2012).

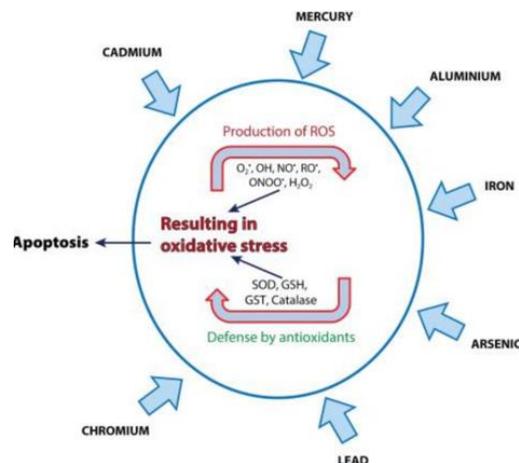


Figura 3. Equilibrio entre la producción de ROS y la defensa de los antioxidantes dentro de las células como consecuencia de la exposición a metales pesados (Jaishankar et al., 2014)

- **Plomo (Pb):** este metal también proviene de fuentes naturales y antropogénicas, como la combustión de combustibles fósiles, minería, producción de baterías plomadas, munición de guerra, aparatos para las máquinas de rayos X, pesticidas, fertilizantes... (Jaishankar et al., 2014; AESAN, 2021) y las principales vías de exposición son la inhalatoria a través de las partículas de polvo suspendidas en el aire y la ingesta de alimentos contaminados. Dentro del organismo se acumula en huesos, riñones, hígado, corazón y cerebro, siendo el sistema nervioso el más sensible a los efectos secundarios (los primeros síntomas que aparecen tras una exposición aguda son la falta de atención, pérdida de memoria e irritabilidad) aunque también puede afectar al resto de órganos (AESAN, 2021). Además, es capaz de atravesar la barrera placentaria y llegar al feto en el caso de individuos gestantes, provocando malformaciones. La exposición crónica se ha relacionado con un coeficiente intelectual menor del habitual, problemas para expresarse, retraso del crecimiento, abortos y bajos recuentos espermáticos, y también se ha comprobado su poder carcinogénico (Tchounwou et al., 2012; AESAN, 2021).

En cuanto a su mecanismo de acción, el Pb sustituye al Ca, al Mg, al Na y al Fe en ciertas reacciones bioquímicas, interacciona con algunas proteínas, sustituye al Ca en el tejido óseo, inhibe algunas reacciones enzimáticas y produce daño oxidativo a través de ROS (Jaishankar et al., 2014). Además, produce tumores induciendo mutaciones en determinados genes, inhibiendo la síntesis y reparación de la cadena de ADN, produciendo daño oxidativo e interaccionando con proteínas supresoras de células tumorales (Tchounwou et al., 2012).

Otra de las características de casi todos los metales pesados es que, además de bioacumularse en los propios individuos, también tienen la capacidad de biomagnificarse a lo largo de la pirámide trófica: desde las fuentes de contaminación como pueden ser las aguas, el suelo o el aire llegan a los seres vivos primarios, que posteriormente son ingeridos por aquellos que ocupan lugares más elevados en la pirámide, y así sucesivamente hasta llegar a la cima donde se encuentran los grandes depredadores, entre ellos la especie humana. Debido a esto, los bioindicadores de mayor utilidad suelen ser los de la cima como se irá mostrando con diversos estudios, ya que son los que tendrán mayores concentraciones de metales pesados en su organismo. Sin embargo, no se puede ignorar al resto de bioindicadores de niveles inferiores de la pirámide trófica, ya que si se detecta en ellos una fuente de contaminación existe la posibilidad de actuar de forma prematura para minimizar los daños que esos contaminantes pueden generar en el resto de la cadena alimentaria.

3. Papel de los bioindicadores y los biomarcadores en la gestión medioambiental

En primer lugar, los “bioindicadores” o “especies centinela” son seres vivos que habitan en el medio ambiente y que tienen la capacidad de responder a los cambios que ocurren a su alrededor. En algunas ocasiones, como ocurre con los metales pesados, estos seres pueden incluso acumularlos en su interior, lo que resulta muy útil para medir la cantidad de estos elementos en la naturaleza por extrapolación (Pinto, 2018). Algunos ejemplos de bioindicadores son los gusanos blancos *Enchytraeus albidus* y *Enchytraeus crypticus*, que actúan como modelos en ecotoxicología del suelo al estar expuestos a varios xenobióticos (Kovacevic et al., 2021), o el uso del canario en las minas para avisar a los mineros de que la atmósfera no era segura por contener concentraciones demasiado elevadas de monóxido de carbono (CO) y de otros gases (Beck et al., 2020).

Como norma general, un buen centinela será aquel organismo que refleje de forma veraz cuál es la situación real de un ecosistema o de la zona que se esté evaluando, pero también aquel que permita llevar a cabo un adecuado muestreo por parte de los investigadores. Es importante que sea típico del ecosistema estudiado, que su población sea lo suficientemente grande como para obtener resultados fiables (en muchas ocasiones será interesante estudiar individuos de ambos sexos y de diferentes edades para comprobar en qué medida afecta el tóxico a cada grupo) y que posea un comportamiento que facilite su estudio y manejo (en la mayoría de estudios es necesaria la toma de muestras de fluidos biológicos y tejidos). Además, debe ser capaz de sobrevivir a altas concentraciones de tóxicos ambientales, acumulándolos y concentrándolos en su organismo (Parra, 2014) pero no debe ser ni muy tolerante ni muy sensible (Gildardo, 2016).

Otras características que debe cumplir es que previamente se haya estudiado su ciclo vital y qué relación tiene con su ecosistema, que no posea demasiada movilidad, que resulte fácilmente identificable y por supuesto que la investigación sea económicamente viable (Gildardo, 2016).

En segundo lugar, los “biomarcadores” son respuestas que ocurren en el organismo cuando este se expone a un tóxico (Anze et al., 2007) y se hablará principalmente de tres tipos: los “biomarcadores de exposición” son aquellas respuestas que indican que el bioindicador ha estado expuesto a un tóxico (presencia del contaminante o de sus metabolitos, inducción de enzimas...), los “biomarcadores de efecto” son aquellos que indican cuál es la relación entre un tóxico y las diferentes estructuras orgánicas alteradas (la inhibición de la actividad de una

enzima, un daño oxidativo, daño en los ácidos nucleicos...) y los “biomarcadores de susceptibilidad” son aquellos que reflejan cuáles son las características que hacen que unos individuos sean más sensibles que otros (como polimorfismos genéticos) (Branco et al., 2017). Un conjunto de biomarcadores permite hacer un “biomonitoreo” o “biomonitorización”, que consiste principalmente en vigilar cuál es la exposición a un tóxico y cuáles son sus efectos sobre el organismo (Anze et al., 2007). Estos biomonitoreos pueden realizarse en condiciones de campo (con el animal en libertad) o en el laboratorio, empleando animales capturados o criados en cautividad.

Se ha demostrado a través de muchos ensayos que el biomarcador ideal es aquel que puede medirse con técnicas no invasivas para el ser vivo, que sea sensible a los xenobióticos y específico para aquel compuesto que se esté tratando de evaluar. Estos son algunos ejemplos de biomarcadores para un metal pesado de gran interés, el metilmercurio (meHg) (Branco et al., 2017):

- **Biomarcadores de exposición:** niveles de meHg en sangre, pelo y tejido cerebral
- **Biomarcadores de efecto:** reducción del Glutathión intracelular, problemas en la biosíntesis del grupo Hemo y posterior acumulación de Coproporfirinas (producto intermedio de la vía de síntesis del grupo Hemo), producción de ROS e inducción de Metalotioneínas (proteínas de bajo peso molecular y ricas en residuos de Cisteína)
- **Biomarcadores de susceptibilidad:** polimorfismos de nucleótido único (SNP) de genes relacionados con la distribución y la excreción de los xenobióticos del metabolismo

En esta revisión bibliográfica se describirá, desde el punto de vista de la ecotoxicología, la conexión entre las especies bioindicadoras y los metales pesados que estas ayudan a evaluar por medio de diferentes biomarcadores, además de los efectos secundarios que gracias a ellas pueden evitarse y/o gestionarse para la salud humana, animal, vegetal y medioambiental.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Según la OMS, el 23% de las muertes humanas en todo el mundo cada año son a causa de factores ambientales que se podrían modificar y/o prevenir. Las principales enfermedades responsables de estas muertes son el accidente cerebrovascular, la cardiopatía isquémica, la diarrea y el cáncer. Se sabe que los factores de riesgo para estas patologías están relacionados con la presencia accidental o intencionada de contaminantes químicos y radiaciones en el aire, agua y suelo, que posteriormente llegan a las personas por diferentes vías como la inhalatoria o la ingesta de alimentos. El objetivo de esta revisión bibliográfica es recopilar y analizar información actualizada sobre el papel de los bioindicadores en la evaluación de la exposición a los tóxicos ambientales, así como los efectos adversos que producen sobre los organismos vivos.

Aunque existen muchos tipos de contaminación ambiental, tanto física (radiación) como química (metales pesados, plaguicidas, bifenilos organoclorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, dioxinas, furanos, nitratos...), este trabajo se centra exclusivamente en los metales pesados. Para ello, se expondrán las últimas investigaciones realizadas con animales centinela ordenándolos de menor a mayor proximidad con la especie humana: en primer lugar se tratarán los invertebrados acuáticos y los vertebrados, incluyendo peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos. Posteriormente, se tratarán los invertebrados terrestres y los vertebrados, incluyendo aves silvestres, domésticas, mamíferos y en último lugar las mascotas, que ya forman parte de los núcleos familiares y son, por tanto, los bioindicadores más valiosos en los hogares. Además, de este modo se mencionarán bioindicadores de diferentes niveles de la cadena trófica, para describir qué información aporta cada uno de ellos.

Los objetivos específicos incluyen:

- Identificar bioindicadores de contaminación ambiental empleados en la actualidad
- Identificar biomarcadores ampliamente utilizados en diferentes especies
- Analizar las características de las especies centinela tratadas
- Comprender la importancia de los bioindicadores para llevar a cabo proyectos de gestión de salud medioambiental y humana (*One Health*)
- Analizar las limitaciones de los bioindicadores en las investigaciones en ecotoxicología

METODOLOGÍA

Este trabajo consiste en una revisión bibliográfica en la que se ha incluido la información más relevante y novedosa acerca del papel de los bioindicadores en la evaluación de la exposición a la contaminación ambiental y sus efectos tóxicos sobre la salud de los seres vivos. Para ello, se ha hecho uso de diferentes buscadores científicos, revistas reconocidas en formato electrónico y páginas web oficiales.

El buscador que más se ha utilizado es **Alcorze**, que permite buscar recursos de la Biblioteca de la Universidad de Zaragoza tanto de fuentes internas (catálogo de la biblioteca, repositorio institucional *Zaguán*, etc.) como externas. Otros motores de búsqueda que se han utilizado son **Pubmed**, que permite consultar artículos de revistas científicas, entre ellas *Aquatic Toxicology*; *Science of the total environment*; *Public Health Reports*; *Environmental reserch*; *CES Salud Pública*; *General and comparative endocrinology*; *Observatorio medioambiental*; *The journal of emergency medicine*; *Red de Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente*; *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*; *Interdisciplinary toxicology*; *Scientific African*; *Environmental Monitoring & Assessment*; *Nutrition and Healthy Aging*; *Environmental science and technology*; *Ecotoxicology and Environmental Safety*; *Environmental pollution*; *Chemosphere*; *Ecotoxicology*; *Marine pollution bulletin* y *Journal of toxicology & environmental health*, de las cuales proceden los estudios incluidos en esta revisión, y **Google Académico**, especializado en la búsqueda de bibliografía científico-académica.

Las palabras clave para realizar las búsquedas han sido las siguientes: “*sentinel animals*”, “*heavy metals*”, “*bioindicators*”, “*environmental pollution*”, “*biomarkers*”, “*mammals*”, “*fish*” y “*One Health*”, acotando las fechas de publicación de los artículos entre el año 2010 y 2021, para explorar los avances científicos más recientes (aunque en alguna ocasión se han incluido estudios publicados a partir del año 2000 por su importante relevancia).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se proceden a describir varios estudios de reciente importancia realizados con bioindicadores para evaluar la exposición a contaminantes ambientales y sus efectos sobre la salud. Estos estudios girarán en torno a los metales pesados, ampliamente distribuidos por el medio ambiente, comenzando en primer lugar con los ecosistemas acuáticos y continuando en segundo lugar con los ecosistemas terrestres.

1. Bioindicadores en ecosistemas acuáticos

1.1. Invertebrados

Dentro de los ecosistemas acuáticos, existen numerosos ejemplos de organismos invertebrados que han servido como modelos en investigación: el descubrimiento de las transmisiones iónicas de los potenciales de acción en el sistema nervioso gracias al axón del calamar gigante, la proteína verde fluorescente (GFP) que se aisló por primera vez en la medusa de cristal (*Aequorea victoria*) actualmente utilizada como biomarcador de imagen de procesos celulares, la polimerasa Taq que impulsó la revolución de la secuenciación y la técnica PCR y que se aisló por primera vez en la bacteria termófila *Thermus aquaticus*, etc. (Gribble, 2021).

Los anteriormente mencionados son solo algunos ejemplos, pero centrándonos en bioindicadores concretos, según un estudio realizado en China en condiciones de laboratorio con el rotífero *Brachionus plicatilis* (Figura 4) esta especie de zooplancton resulta de gran utilidad para evaluar el estado de polución ambiental de los ecosistemas marinos (Li et al., 2020). Los rotíferos son un modelo de estudio ampliamente utilizado en el campo de la ecotoxicología marina, por varios motivos: su amplia distribución, facilidad para ser cultivado en condiciones de laboratorio, tamaño microscópico, reproducción sexual y asexual, una esperanza de vida alrededor de las 2 semanas y ciclo de vida complejo (alcanza el desarrollo completo sin necesidad de una fase larvaria). Además, el hecho de que sea un organismo transparente permite observar los cambios morfológicos de forma directa, y su similitud genética con los seres humanos también resulta útil a la hora de realizar estudios comparativos (Gribble, 2021).

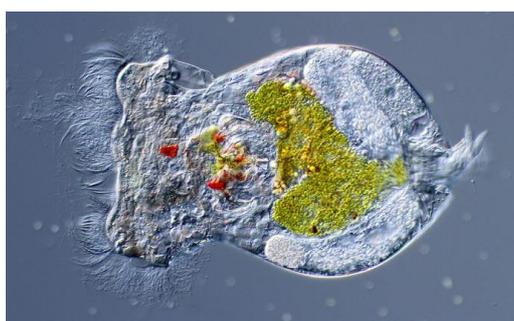


Figura 4. Rotífero *Brachionus plicatilis* (Israel, 2020)

Por otro lado, aporta datos sobre toxicidad aguda y crónica gracias a biomarcadores de efecto como la actividad enzimática y la expresión de genes. Algunos de los metales pesados que se han estudiado son el aluminio, arsénico, cadmio, zinc, mercurio y cobre, calculándose las dosis letales 50 (DL₅₀) a las 24 y 48 horas para cada uno de ellos disueltos en agua (Li et al., 2020). Además, otro de los resultados obtenidos en dicho estudio fue que la materia orgánica disuelta en el agua presentaba cierto poder protector en respuesta a la exposición (Cooper et al., 2014).

Este estudio muestra cuáles son algunas de las características que hacen atractivos a unos bioindicadores respecto a otros, como su pequeño tamaño o facilidad para ser cultivado. Además, el hecho de que la materia orgánica actúe como protectora del rotífero puede traducirse en que algunos factores del entorno pueden proteger a las especies centinela frente a la contaminación química, algo que también debe estudiarse en la especie humana para identificar cuáles son esos factores (altitud, composición del aire, humedad relativa...).

Por otro lado, según numerosos estudios los moluscos bivalvos parecen ser los bioindicadores preferidos para las investigaciones de ecotoxicidad de los entornos marinos, concretamente los mejillones, cuyo proteoma ha sido estudiado con gran profundidad para hallar las proteínas biomarcadoras más precisas. Todos los bivalvos poseen una gran capacidad de filtración ya que es así como se alimentan, y consecuentemente acumulan grandes cantidades de metales pesados en su organismo, sobre todo cadmio. Este tipo de marisco se emplea de forma habitual para evaluar los niveles de contaminación de las costas, ya que se ha demostrado que los metales pesados pueden degradar tejidos, alterar la expresión de proteínas estructurales (Cd), generar ROS, etc. En las ostras concretamente se ha observado que el Cu, Pb y Zn producen un descenso en los niveles de tropomiosinas, proteínas que participan en la contracción muscular (López-Pedrouso et al., 2020).

Ante la aparición de ROS, el organismo de los bivalvos responde mediante la estimulación de la defensa antioxidante Glutación que ya se ha descrito anteriormente, y ese es precisamente uno de los biomarcadores que se emplea en los estudios de metales pesados. Algunas de las proteínas que se usan como biomarcadoras son las encargadas del metabolismo de las grasas, proteínas y carbohidratos, la subunidad beta de la ATP-sintasa, la isomerasa triosa-fosfato o la unidad III de la citocromo C oxidasa. Estas investigaciones han sido realizadas en la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*), la almeja fina (*Ruditapes decussatus*) y el mejillón mediterráneo (*Mytilus galloprovincialis*), entre otros (López-Pedrouso et al., 2020).

En cuanto a los moluscos bioindicadores de agua dulce, hay uno que destaca por encima del resto: el mejillón cebra (*Dreissena polymorpha*). Se trata de una especie invasora que puede

resultar de utilidad en aquellas zonas en las que ya se ha asentado o para realizar análisis en condiciones de laboratorio, empleando como biomarcadores algunas de las proteínas que ya se han mencionado para los moluscos de agua salada (Binelli et al., 2015).

Otro ejemplo del uso de invertebrados es el llevado a cabo en el Parque Nacional de Doñana (PND), donde se emplea el “cangrejo rojo” o “americano” (*Procambarus clarkii*) para vigilar la salud ambiental del parque. Situado en la desembocadura del río Guadalquivir, en este ecosistema viven múltiples especies que han sido declaradas en peligro de extinción y que se ven amenazadas por las actividades agrícolas e industriales que ocurren en los alrededores, de modo que llevar un control de las condiciones del entorno resulta esencial para su cuidado. El cangrejo rojo, además de tratarse de una especie invasora, es un buen bioindicador por su largo ciclo de vida, amplia distribución geográfica y sedentarismo, y el biomonitoreo consiste en capturar animales de cinco puntos distintos de la zona para después evaluar la cantidad de metales en sus tejidos y en los sedimentos de la tierra. Esos cinco puntos son los siguientes: de varios arroyos que desembocan en acuíferos del parque y que llevan aguas provenientes de tierras con alta actividad agrícola e industrial (A), de las marismas cercanas a los campos donde se produce la mayor parte del arroz que se consume en el país (E), de arroyos donde se cultivan cítricos y fresas empleando grandes cantidades de agroquímicos (B y C) y por último de la laguna del interior del parque (F), en teoría alejada de toda fuente de contaminación directa (Figura 5) (Fernández, 2016).

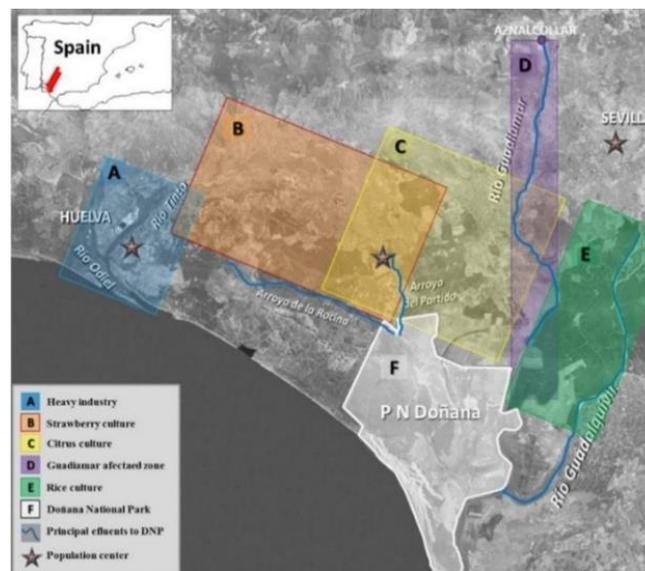


Figura 5. Zonas próximas al PND de las cuales se capturan cangrejos americanos para realizar la toma de muestras y medir las concentraciones de metales pesados (Fernández, 2016)

Los biomarcadores de exposición que se utilizan son la cantidad de metales que se encuentran en la glándula digestiva y en las branquias de los cangrejos. Por otro lado, algunos de los biomarcadores de efecto agudo son los siguientes: daños oxidativos de lípidos y proteínas, desbalance de la respiración mitocondrial y procesos inflamatorios. Se ha visto que la exposición de forma crónica a metales provoca cambios en muchas funciones relacionadas con la defensa contra el estrés oxidativo, tales como estrés del retículo endoplasmático, inflamación y respuesta inmune, y cambios en el metabolismo energético para adaptarse a una situación de compromiso de la función mitocondrial por el daño oxidativo en lípidos y membranas biológicas (Fernández, 2016).

En este caso, se trata de un bioindicador de agua dulce que ayuda a conocer el grado de contaminación ambiental de ese hábitat concreto, y gracias a los biomarcadores de exposición y de efecto es posible medir cuál es el daño provocado por los metales pesados a las especies de ese entorno, para así tomar medidas de protección si fuera necesario.

1.2. Vertebrados

En la actualidad se conocen muchos modelos de bioindicadores vertebrados que habitan en los ecosistemas acuáticos, como pueden ser los peces, anfibios, reptiles, mamíferos, etc. A continuación se describen las últimas investigaciones llevadas a cabo con ellos:

Para comenzar, se han realizado numerosas investigaciones en peces para determinar el grado de contaminación de las aguas por metales pesados. Su pequeño tamaño, fácil mantenimiento, fertilización externa, rápido desarrollo, transparencia de los embriones, fácil manipulación y semejanza en cuanto a las respuestas fisiológicas con otros vertebrados como los seres humanos los convierten en buenos animales centinela de contaminación ambiental (Nabinger et al., 2018). Para los peces, los metales esenciales son el cobre, zinc, hierro, cromo, níquel, cobalto y molibdeno, mientras que los no esenciales son el cadmio, mercurio, estaño y plomo (Loureiro y Bazzoli, 2021).

Al igual que ocurre con otras especies, los peces también poseen la capacidad de bioacumulación y biomagnificación de sustancias tóxicas (Nabinger et al., 2018; Simionov et al., 2020), lo cual supone que aquellos de mayor calibre (pez espada, emperador, atún rojo, tiburón, etc.) poseerán mayores concentraciones de metales en su organismo por encontrarse en la cima de la cadena alimentaria, mientras que los de pequeño calibre (abadejo, anchoa, arenque, bacalao, etc.) poseerán concentraciones inferiores (*Figura 6*). Esta es la razón por la que la

Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha establecido unas recomendaciones de consumo de pescado por presencia de Hg en función de los grupos de población, que son las siguientes: las personas pertenecientes a la población vulnerable (mujeres embarazadas, planificando estarlo, en lactancia y niños menos de 10 años) deberán evitar el consumo de las especies de gran calibre y limitar el consumo de especies de pequeño calibre a 3-4 raciones por semana, mientras que la población general podrá consumir pescado de todas las especies 3-4 veces por semana, preferiblemente alternando entre blanco y azul (AESAN, 2020).

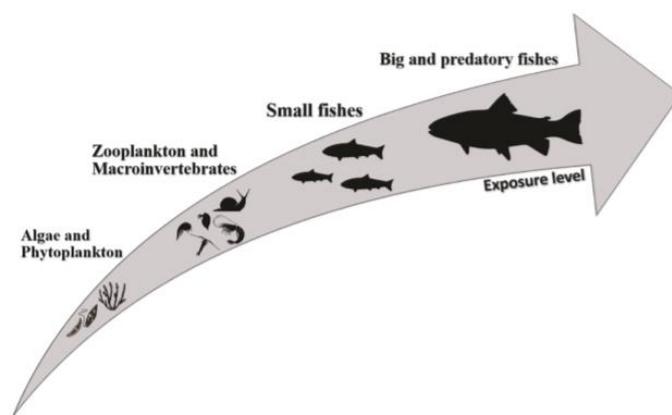


Figura 6. Bioacumulación de metales pesados en la cadena alimentaria de ecosistemas acuáticos (Loureiro y Bazzoli, 2021)

Como demuestra un estudio realizado con peces de agua dulce en América del sur, las principales vías de entrada de los metales pesados a estos centinelas son el tracto digestivo, las branquias y la piel, y la acumulación en el organismo de los mismos se ve influenciada por el pH del agua, su dureza, materia orgánica disuelta, temperatura y salinidad. Además, otros factores que influyen son la edad del animal, su peso, tamaño, dieta, hábitat y condición metabólica. Se ha demostrado que los metales se acumulan en el tejido hepático, esplénico, renal y branquial, y que ocasionan daños enzimáticos y metabólicos, provocando desórdenes bioquímicos y morfológicos (Simionov et al., 2020; Loureiro y Bazzoli, 2021).

Además, se observó que una vez los metales llegan a los tejidos pueden estimular la producción de ROS (radicales de oxígeno, radicales libres, peróxidos, etc.), provocando daño oxidativo en macromoléculas, membranas lipídicas y en la cadena de ADN. Además, puede hacerse una distinción entre los metales con potencial redox (Cr, Cu y Fe) y los que no lo tienen (Pb, Ni, Cd, As y Hg): aquellos con potencial redox producen ROS a través de reacciones redox y de la reacción de Fenton (proceso de oxidación avanzado en el que se producen radicales hidroxilo altamente reactivos), mientras que los metales sin potencial redox lo hacen a través

de la reducción/agotamiento de Glutati3n y de grupos sulfhidrilo. Para finalizar, las 3ltimas investigaciones determinan que algunos metales pesados tambi3n act3an como disruptores endocrinos, provocando alteraciones reproductivas (Loureiro y Bazzoli, 2021).

Resulta interesante mencionar que dentro de todas las especies que se emplearon en el estudio, las bent3nicas fueron las que mostraban mayores concentraciones de metales en sus tejidos, por poseer un contacto continuo con los sustratos del suelo, y las carn3voras, por el proceso de bioacumulaci3n. Los biomarcadores de efecto fueron hiperplasias, necrosis de epitelios branquiales, cambios morfol3gicos de c3lulas sangu3neas, cambios circulatorios, fibrosis espl3nica y aumento de los marcadores de estr3s hep3tico (citocromo P450 1A-CYP1A y prote3na HSP70), entre otros (Loureiro y Bazzoli, 2021).

En este estudio se puso de manifiesto que las condiciones del medio ambiente pueden influir en la concentraci3n de metales que se acumulan en el organismo de los seres vivos, al igual que ocurri3 con el rot3fero *Brachionus plicatilis*. Adem3s, tambi3n se demostr3 que la contaminaci3n ambiental produce efectos perjudiciales a muchos niveles del organismo, y que la ubicaci3n de los seres vivos puede influir en la exposici3n, como ocurre con los peces bent3nicos frente a los pel3gicos.

Por otro lado, en ese mismo estudio tambi3n se indag3 acerca de los efectos de los metales pesados sobre algunos anfibios: son animales que pasan gran parte de su vida en el agua y absorben los contaminantes a trav3s de la piel, adem3s de ser los 3nicos vertebrados acu3ticos que realizan una metamorfosis dependiente de las condiciones medioambientales de la zona. Utilizando al necturo (*Necturus maculosus*), una especie de salamandra, se observ3 que los metales produc3an da3os en el eje Hipot3lamo – Hip3fisis – Gl3ndula adrenal, dando como consecuencia un fallo en la producci3n de corticosterona, y que el cadmio concretamente produc3a efectos t3xicos al acumularse en los tejidos hep3ticos y renales (Di Lorenzo et al., 2020).

En cuanto a los reptiles de agua dulce, se han llevado a cabo investigaciones con quelonios y cocodrilos por su larga esperanza de vida, su capacidad de acumular sustancias t3xicas en el organismo, amplia distribuci3n, dieta variada y lento metabolismo (en comparaci3n con otros animales como las aves o los mam3feros), ya que tardan m3s tiempo en recuperarse de los efectos perjudiciales de la contaminaci3n ambiental. Estas investigaciones incluyen las especies *Trachemys scripta elegans* (la m3s estudiada y conocida como “Gal3pago de Florida”), *Chelydra serpentina*, *Mauremys reevesii*, *Podocnemis unifilis*, *Podocnemis expansa* y *Podocnemis erythrocephala* para los quelonios, y *Alligator mississippiensis* (el m3s estudiado y conocido como

“Aligátor americano”), *Melanosuchus niger*, *Caiman crocodilus*, *Crocodylus moreletti*, *Crocodylus niloticus* y *Crocodylus porosus* para los cocodrilos (Dos Santos et al., 2021).

Se ha demostrado que los metales pesados actúan como disruptores endocrinos y que pueden incluso interferir en el género de los reptiles. Algunos de los metales pesados que se han encontrado en sus tejidos son el Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Al, Pb y Hg, siendo este último el más prevalente, y se acumulan en los riñones, hígado, gónadas, huesos, escamas, caparazón y músculos. En estas investigaciones también se hizo una distinción entre los metales esenciales y los no esenciales para cada especie (Dos Santos et al., 2021).

Las muestras que suelen elegirse en este grupo de animales provienen de los órganos internos en los que se acumulan los metales, sangre (indicador de exposición aguda), garras y escamas (indicadores de exposición crónica). Comparando los datos recabados en tortugas y cocodrilos, muchos estudios coinciden en que los niveles de metales pesados son más altos en los cocodrilos, algo que concuerda con su lugar en la cima de la pirámide trófica, mientras que las tortugas se encuentran en una posición media. Otro dato de interés es que aquellos cocodrilos que cambian su dieta al llegar a la edad adulta y sustituyen el consumo de peces por el de mamíferos terrestres muestran niveles más bajos de metales en sus tejidos (sobre todo de meHg) que aquellos que continúan alimentándose de formas de vida acuáticas toda su vida. Algunos de los efectos perjudiciales que se han detectado en estos animales son trastornos reproductivos, nefrotoxicidad y hepatotoxicidad (Dos Santos et al., 2021).

Las aves son otro grupo de animales centinela que también aporta información sobre la contaminación ambiental; así lo demuestra un reciente estudio realizado con aves de presa en Europa en el que se observó que éstas acumulaban altas concentraciones de metales pesados en su organismo. Una de las especies más utilizada en el estudio fue el águila de cola blanca (*Haliaeetus albicilla*), un ave piscívora que acostumbra a pescar en zonas de río. Las muestras obtenidas de los huevos mostraron que los contaminantes se acumulaban en su interior durante su formación, llegando hasta la yema y pudiendo ocasionar futuras alteraciones del desarrollo. Se demostró que la concentración del contaminante en el huevo era proporcional a la concentración encontrada en el organismo de las hembras que los habían puesto, de modo que reflejaban el daño ocasionado en esta parte de la población. Además, también se vio que las plumas son una buena muestra para los estudios de toxicidad (González, 2021).

Es importante tener en cuenta que las aves muestran síntomas tras la exposición a sustancias tóxicas con mayor rapidez que otras especies, debido a su rápido metabolismo (tienen el mayor nivel metabólico basal de todos los vertebrados) y a la anatomía/fisiología de

su aparato respiratorio: debido a sus grandes necesidades de oxígeno para volar durante largas distancias, las aves poseen sacos aéreos que les permiten maximizar la respiración. Gracias a ellos, el aire llega a los pulmones cargado de oxígeno tanto en la inspiración como en la espiración, a diferencia de los humanos en los que solo llega en la inspiración. Como se puede deducir, la consecuencia de tener los pulmones tan expuestos al aire es que cualquier tóxico se acumulará con mayor rapidez en su organismo (*Figura 7*) (Pascual, 2017).

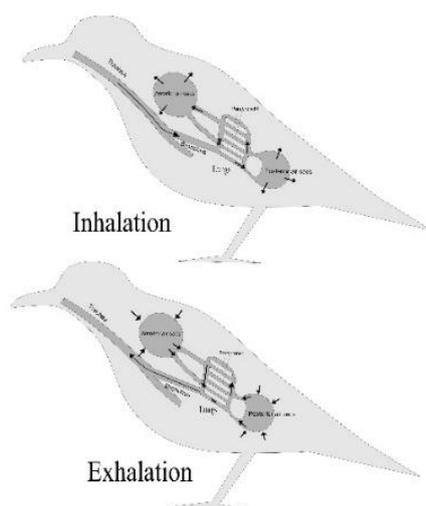


Figura 7. Intercambio gaseoso en los sacos aéreos de las aves (Pascual, 2017)

Por otro lado, en los últimos 50 años se ha avanzado mucho en la investigación de los mamíferos marinos, sobre todo por su larga esperanza de vida, por el lugar que ocupan en la cima de la pirámide trófica y por su capa de grasa subdérmica que permite que los contaminantes lipofílicos se acumulen con facilidad. Las primeras investigaciones realizadas sobre estos bioindicadores fueron precisamente acerca de la exposición a metales pesados: se analizaron tejidos tanto de animales muertos encontrados en las playas como de animales vivos capturados, y se observó que la cantidad de residuos encontrados en los tejidos aumentó drásticamente a finales del siglo XX, coincidiendo con los grandes avances que se llevaron a cabo en la industria química. Concretamente, a finales de los años 60 se detectaron altas concentraciones de Hg en pinnípedos y cetáceos (Reif, 2011).

Este estudio demuestra, entre otras cosas, la importancia de los animales centinela para trazar un mapa espacial y temporal de salud medioambiental, y así comparar el estado de cualquier ecosistema en un momento concreto de la historia con el momento presente. También permite ponerse objetivos a futuro y después verificar si se han cumplido o no, como por ejemplo en campañas de protección medioambiental.

Según otro estudio de 2020, los mamíferos marinos son los animales más expuestos a Hg de todo el planeta debido a la contaminación que sufren los mares por acciones humanas. La mayoría de las investigaciones que se han realizado hasta la fecha giran en torno a los cetáceos dentados, que se caracterizan por la presencia de dientes en lugar de barbas, y se ha demostrado que aunque el órgano diana del meHg sea el cerebro, existen otros tejidos que acumulan concentraciones superiores, como por ejemplo el hígado. También se ha visto que las concentraciones presentes en los cetáceos superan con creces las halladas en pinnípedos y osos polares, superando en todas ellas las dosis neurotóxicas (*Figura 8*) (López-Berenguer et al., 2020).

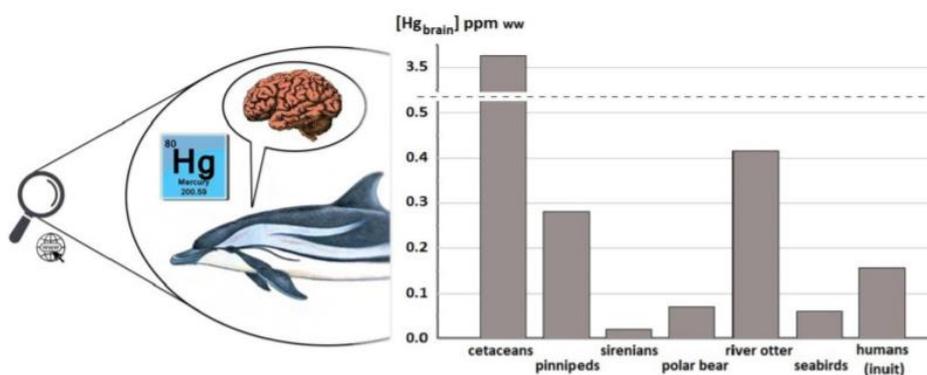


Figura 8. Comparativa de las concentraciones halladas en el tejido cerebral de diferentes especies marinas (López-Berenguer et al., 2020)

Para finalizar, cabe mencionar las investigaciones realizadas con nutrias europeas (*Lutra lutra*) en Dinamarca, también respecto a su exposición al meHg: se trata de una especie que habita en ríos, arroyos, lagos, lagunas, marismas, etc. (podría considerarse una especie de agua dulce) y que se alimenta principalmente de peces, cangrejos, anfibios, reptiles, insectos, aves y pequeños mamíferos (Ruiz-Olmo, 2017). Al tratarse de una especie carnívora se sitúa en la cima de la pirámide trófica de su ecosistema, acumulando el Hg que le llega a través de la dieta (*Figura 9*). Una vez más, las muestras tomadas de estos animales (como el tejido hepático o el pelaje) muestran concentraciones excesivamente elevadas de Hg, por encima de los niveles fisiológicos. Estos estudios no mostraron diferencias reseñables en cuanto a los datos obtenidos de machos y hembras, pero sí mostraron que los marcadores de exposición aumentaban con la edad y que cuanto más cerca del mar se encontraban los individuos, menos dañados estaban sus tejidos (Dibbern et al., 2021).

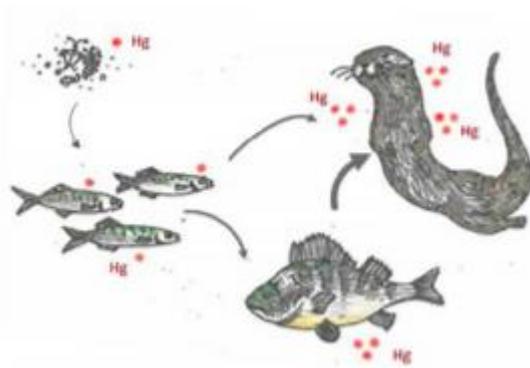


Figura 9. Proceso de bioacumulación de metilmercurio en la especie *Lutra lutra* (Dibbern et al., 2021)

2. Bioindicadores en ecosistemas terrestres

2.1. Invertebrados

Por otro lado, también son de interés los estudios llevados a cabo con especies de ecosistemas terrestres para vigilar el nivel de contaminación por metales pesados. Comenzando con los invertebrados, los gasterópodos pueden emplearse como bioindicadores ya que en respuesta a xenobióticos muestran cambios fisiológicos y de comportamiento como los siguientes: cambios de consumo, de crecimiento, de locomoción, de capacidad reproductiva y excesiva secreción de moco. Poseen la capacidad de acumular numerosos xenobióticos en sus tejidos y tienen una tolerancia bastante elevada. Además, la importancia de estos bioindicadores reside en que están muy expuestos a los contaminantes presentes en las primeras capas del suelo por el simple hecho de que su único pie está totalmente en contacto con la tierra, además de ingerir partículas de suelo cuando se alimentan e inhalarlas al respirar. Su lugar en la pirámide trófica supone que transportan los contaminantes terrestres desde los vegetales (su dieta) hasta los animales carnívoros que se encuentran por encima de ellos (El-Gendy et al., 2020).

En un estudio del año 2000 se observó que el biomarcador más adecuado para estimar la neurotoxicidad de los xenobióticos era la enzima Acetilcolinesterasa, ya que es clave para la transmisión del impulso nervioso (hidroliza la acetilcolina) y se inhibe ante la exposición a contaminantes. Al parecer, los xenobióticos producen daños en las motoneuronas encargadas de realizar los movimientos de masticación, razón por la cual estos animales reducen su consumo. En consecuencia disminuye su tasa de crecimiento y también su capacidad reproductiva. Sin embargo, también se observó que los gasterópodos rechazaban la comida contaminada con metales pesados a partir de una dosis determinada, lo que constituye un mecanismo de defensa frente a la exposición (El-Gendy et al., 2020).

Se ha observado disminución en la tasa de crecimiento al exponer a los gasterópodos a metales durante 14 días, debido a que producen la inhibición de la enzima Anhidrasa carbónica que es responsable de la formación de la concha, ya que compiten con factores del crecimiento como el calcio y el magnesio. También se observó una disminución del crecimiento en otro estudio realizado con individuos expuestos a plomo proveniente de los gases del tráfico durante 12 semanas, y otro estudio similar pero con exposición a cobre mostró los mismos resultados, en este caso debido a una disminución en la producción de la hormona del crecimiento (GH) como consecuencia de trastornos neuroendocrinos (El-Gendy et al., 2020).

En cuanto al exceso de producción de moco, esto supone un problema a la hora de alimentarse, desplazarse, adherirse, mantener un correcto estado de lubricación y de protección (posee propiedades antibacterianas, antivirales, antifúngicas y antioxidantes). Se ha demostrado que los responsables de este exceso de producción son los combustibles con cobre y el carbonato de cobre y amonio (El-Gendy et al., 2020).

Una vez más, gracias a esta investigación se confirma que aquellas especies que se encuentran más próximas al suelo son las que se ven más expuestas a los metales pesados de la tierra y de los sedimentos, como se ha visto con los peces bentónicos.

2.2. Vertebrados

En los hábitats terrestres las aves también resultan esenciales para evaluar la salud medioambiental. Ejemplos de ellos son: el halcón peregrino (*Falco peregrinus*), cuya dieta consiste principalmente en aves de tamaño mediano, pequeños mamíferos, reptiles e insectos; el azor norteño (*Accipiter gentilis*), una especie de gran importancia en cetrería para cazar en el bosque; y los búhos, aves nocturnas que se alimentan de ratones, insectos, peces y otros animales de pequeño tamaño. Según un estudio mencionado previamente realizado con estas aves de presa en Europa este mismo año 2021, se observaron altas cantidades de metales pesados en su organismo empleando muestras de sangre, huevos, tejidos y plumas. Los resultados de ese estudio mostraron, al igual que ocurría en el caso del águila de cola blanca, que las muestras obtenidas de los huevos de estas aves reflejaban un acúmulo de metales pesados en su interior durante su formación, y que la concentración de esos contaminantes era proporcional a la encontrada en el organismo de las hembras que habían puesto esos huevos. Es importante mencionar que los estudios con tejidos internos fueron más escasos debido al carácter protegido de estos bioindicadores (no es posible sacrificarlos para tomar muestras),

pero que las muestras obtenidas de las plumas resultaron ser muy útiles para medir la cantidad de metales pesados de la zona (González, 2021).

Además de los estudios realizados con aves silvestres, también se han llevado a cabo investigaciones con aves que habitan en entornos urbanos, como los gorriones (género *Passer*) o las palomas (orden Columbiforme). Estas aves conviven con los seres humanos de una forma más próxima que las aves de vida libre, de modo que aportan información muy valiosa sobre el estado de salud de los entornos más cercanos a las personas.

Para las aves, el zinc y el cobre son metales esenciales (los necesitan para desarrollar los huevos y para el crecimiento de sus plumas), mientras que el arsénico, el plomo y el cadmio son no esenciales. Comenzando con el gorrión, esta es una especie que se ha utilizado mucho como bioindicadora por su asociación con ambientes urbanos como ya se ha mencionado y como demuestra el siguiente estudio del sur de Italia: empleando al gorrión común italiano (*Passer domesticus italiae*) se midió la concentración de zinc, cobre, plomo y cadmio en hígado y riñón (biomarcadores de exposición), realizando dos muestreos, uno en una zona altamente industrializada y otro en una zona rural. En ambos grupos se detectaron cantidades superiores de zinc y cobre que del resto de metales pero dentro de la normalidad, debido a su carácter fisiológico, y los animales de la zona industrializada mostraban mayores concentraciones de metales tóxicos que los de la zona rural, resultados esperables dada la situación. Los biomarcadores de efecto utilizados fueron los cambios observados en las aves, como reducción del peso corporal, de la tasa de crecimiento, de la capacidad reproductiva, alteraciones del comportamiento, del sistema inmunitario y endocrino, todos consecuencia de una exposición crónica (Parra, 2014).

Según otro estudio realizado en Cisjordania con gorriones (*Passer domesticus*) siguiendo el mismo procedimiento, se evidenció que el zinc era el metal que se encontraba en mayor concentración en los tejidos (pero dentro de la normalidad debido a su carácter fisiológico), y el cadmio en menor. En este caso se llegó a la conclusión de que la capacidad de los tejidos para ser empleados como biomarcadores de exposición fue esta, de mayor a menor: hígado, estómago, hueso, pulmón, plumas, músculo, contenido del huevo, cerebro, corazón y cáscara del huevo. Dicho de otro modo, el tejido hepático es el que tiene mayor capacidad para acumular metales, y la cáscara de huevo el que menos. Además, también se observó que la contaminación que se mide a través de los pulmones de las aves representa el estado del aire en general, mientras que la medida a través de las plumas refleja la contaminación ambiental

durante el corto tiempo de crecimiento de esas mismas plumas. La opción más acertada para cuantificar la exposición aguda resultó ser la toma de muestras de sangre (Parra, 2014).

A través de todas las investigaciones que se están describiendo en esta revisión bibliográfica es posible conocer qué muestras son las más adecuadas para evaluar la contaminación ambiental en el tiempo y en los diferentes lugares del planeta. Además, a la hora de realizar un estudio por ejemplo con un metal como puede ser el plomo, resulta imprescindible revisar la bibliografía que existe sobre ello, para saber qué tejidos o muestras son las mejores para cuantificar los niveles del metal pesado en cuestión.

Por último, las palomas también se han empleado en numerosos estudios por poseer una movilidad limitada, una alta tasa metabólica, hábitat urbano, inhalación de gases superior a la del ser humano e ingesta de pequeñas piedras y alimentos expuestos a deposición de partículas. Según un estudio realizado en Corea, una vez más con un grupo urbano y otro rural, se evidenció una mayor exposición a plomo y cadmio en las del primer grupo respecto al segundo, poniendo de manifiesto la contaminación existente en las zonas industrializadas (Parra, 2014).

Respecto a los mamíferos terrestres, estos poseen unas características específicas que los convierten en pilares fundamentales de los biomonitoreos: son especies de las cuales se conocen más parámetros fisiológicos y costumbres alimentarias que de muchas otras, existen técnicas más fiables para calcular su edad, su mayor tamaño ofrece mayor superficie para la toma de muestras, algunas de ellas son objeto de caza (facilita su captura), poseen una larga esperanza de vida y al igual que los humanos, son mamíferos, de modo que los resultados obtenidos podrán predecir mejor que otras especies cómo reacciona el organismo humano al agente de peligro estudiado (Hermoso et al., 2008).

Se podría comenzar hablando de varios estudios que se han realizado con visones americanos (*Neovison vison*) como parte de proyectos de protección de salud medioambiental en Canadá, al tratarse esta de una especie centinela. Son animales piscívoros que ocupan un lugar bastante elevado en la pirámide trófica y bioacumulan metales en su organismo. Las investigaciones se realizaron tanto en condiciones de laboratorio como de campo, y aunque se estudiaron numerosas sustancias químicas, en este caso se tratará exclusivamente el mercurio como representante del grupo de los metales pesados. Cabe añadir que el sector de la peletería ha contribuido en gran medida a recopilar información sobre esta especie (Basu et al., 2007).

En cuanto a las investigaciones realizadas en condiciones de campo, las muestras se obtuvieron de los visones capturados para la industria peletera. Las concentraciones de Hg encontradas en sus tejidos reflejaban la cantidad de ese metal en las presas locales, y los

biomarcadores de efecto fueron las lesiones neuronales, cambios de comportamiento y la muerte en los casos más graves. Tomando muestras de visones de diferentes áreas del país se pudo determinar que aquellos que habitaban en la costa Este mostraban concentraciones superiores de Hg en el tejido hepático y cerebral que el resto, coincidiendo con la actividad industrial de la zona. Según otro estudio realizado en 2004 con visones de la costa y de la zona interior de Nueva Escocia, la cantidad de Hg en el tejido hepático era un 200% superior en el segundo grupo, muy probablemente debido a acciones antropogénicas. Además, otra prueba de que los contaminantes pueden afectar a las poblaciones de visones es que su número se ha visto reducido en aquellas zonas próximas a las industrias (Basu et al., 2007).

Por otro lado, en cuanto a las investigaciones realizadas en el laboratorio, se alimentó a un grupo de visones con una dieta alta en meHg y a otro con una dieta alta en Hg. Los resultados fueron que aquellos animales alimentados con la forma inorgánica lo acumulaban solamente en el tejido renal, mientras que el meHg se acumula en el tejido renal, hepático, muscular, cerebral, pulmonar, esplénico y cardíaco. Además, 10 $\mu\text{g/g}$ de Hg inorgánico no provocaban síntomas clínicos, mientras que 5 $\mu\text{g/g}$ de meHg eran suficientes para provocar la muerte de los animales. Esto ocurre debido a que el Hg inorgánico tiene dificultades para penetrar las membranas biológicas, para acumularse en los seres vivos y además se excreta con facilidad. Tras una semana de exposición comenzaban a verse signos de anorexia, ataxia, convulsiones, temores y vocalizaciones, similar a lo que ocurre en el caso de los humanos intoxicados (Basu et al., 2007). Este estudio confirma que el meHg es más nocivo para salud que el Hg.

Más recientemente, en el año 2020 se realizó un estudio sobre la exposición a cadmio y plomo (tanto combinados como por separado) en un grupo de 10 ovejas de raza Árabe argelina ("Ouled-Djellal") en Argelia. Estas ovejas estaban clínicamente sanas, no estaban ni gestantes ni en fase de lactación y se alojaron en colectividad bajo las mismas condiciones medioambientales. En primer lugar, se emplearon como grupo control dejándolas adaptarse a su nuevo entorno durante 1 mes, y después fueron separadas en dos grupos (5 animales en cada uno). Al primer grupo se le introdujo en la dieta una dosis de Cd de 2mg/kg, mientras que al segundo se le introdujo esa misma dosis junto con 2'5mg/kg de Pb, con el objetivo de simular la exposición que sufren los animales de las zonas contaminadas por metales pesados. El experimento duró 63 días, durante los cuales se iban tomando muestras de sangre de los animales y se les realizaban exploraciones físicas generales en busca de signos clínicos de enfermedad. También se tomaron muestras de sangre antes de comenzar la exposición y 1 mes después de finalizar el experimento, para medir las concentraciones de Cd y Pb (biomarcadores de exposición), algunos metales esenciales para la raza ovina como son el Zn, Cu, Fe y Ca, el

hematocrito y los siguientes parámetros bioquímicos: hemoglobina, proteínas séricas totales (PT), alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y creatinina. Una vez los animales fueron sacrificados se tomaron muestras de riñón e hígado en las necropsias (Sassia et al., 2021).

Los resultados mostraron que las principales vías de exposición para los rumiantes son el agua de bebida, el forraje de la dieta y el propio suelo, y que después de absorberse en su organismo el Cd se acumula en el hígado, riñones y músculo. En cuanto a los niveles de Cd en sangre, ambos grupos experimentales habían sufrido un aumento, pero este había sido mayor en el grupo alimentado con Cd y Pb simultáneamente que en el alimentado solo con Cd (*Figura 10*). Sin embargo, los niveles de Zn, Cu, hemoglobina y hematocrito habían descendido en ambos grupos por debajo de los niveles fisiológicos para la especie. También se observó un aumento de la ALT, AST y creatinina en ambos grupos, sin detectar diferencias relevantes entre ambos, y una disminución del ratio albúmina/globulinas. Las necropsias mostraron que el Cd se acumulaba en mayor proporción en los riñones que en el hígado y las muestras de sangre obtenidas 1 mes después de finalizar la exposición demostraron que los metales pesados son difíciles de eliminar por parte del organismo y que pueden producir efectos secundarios tiempo después de entrar en el organismo. Esto supone que salir de una zona contaminada no es suficiente para prevenir las patologías que pueden producir a largo plazo (Sassia et al., 2021).

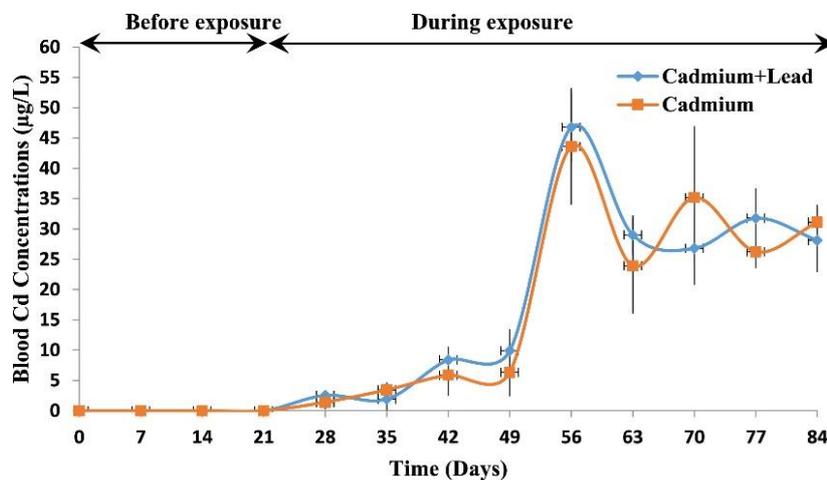


Figura 10. Fluctuaciones en los niveles séricos de Cd en ambos grupos experimentales antes y durante la exposición (Sassia et al., 2021)

Los signos clínicos no aparecieron hasta el final del experimento, momento en el que algunos animales mostraron palidez de mucosas compatible con anemia y alopecias. Los individuos del estudio no estaban en fase de lactación, pero se ha demostrado en otras investigaciones que la exposición a Cd reduce la producción de leche (Sassia et al., 2021).

En definitiva, este estudio mostró que la exposición continuada a estos dos metales pesados, ya sea de forma individual o conjunta, produce cambios bioquímicos y tisulares en el organismo de los animales afectados, al igual que puede producirlos en los seres humanos. La disminución en los niveles de los metales esenciales (Zn y Cu) es debida a que los metales pesados interfieren en su biodisponibilidad (*Figura 11*). Además, no se debe olvidar el hecho de que los rumiantes forman parte de la alimentación humana, de modo que una vez más se resalta la importancia de controlar las concentraciones de contaminación ambiental que pasan a la cadena trófica por el bien de todos los seres vivos que la componen. El Cd y el Pb pueden acumularse en el tejido muscular, pero también pueden transmitirse a través de la leche, un problema por el consumo en humanos de leche de vaca, oveja o cabra (Sassia et al., 2021).

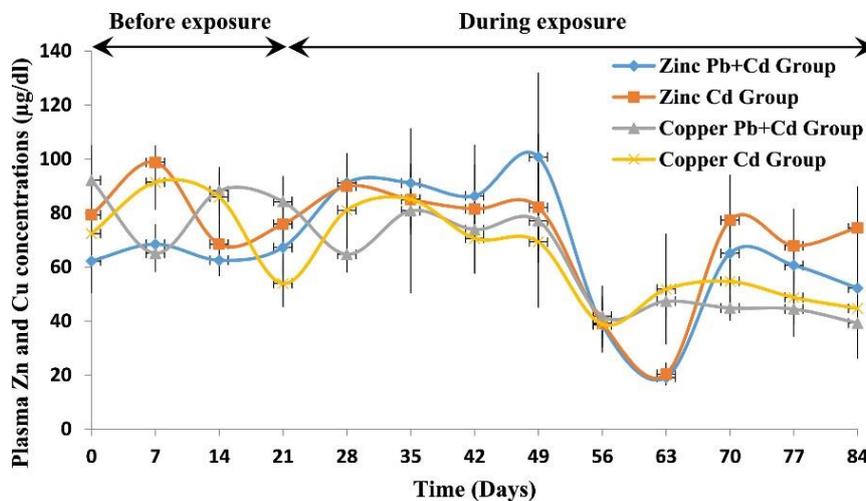


Figura 11. Fluctuaciones en los niveles plasmáticos de Zn y Cu en ambos grupos experimentales antes y durante la exposición (Sassia et al., 2021)

En último lugar, se procede a finalizar esta revisión bibliográfica mencionando los últimos avances e investigaciones realizadas con mascotas como animales centinela de polución ambiental: se ha demostrado que son un buen bioindicador de contaminación en los hogares, ya que conviven con las personas, en muchos casos comparten la comida y además están más expuestas que ellas a los contaminantes por encontrarse más cerca del suelo y por actividades como el acicalado. Su menor esperanza de vida hace que muestren los efectos perjudiciales de los agentes de contaminación con mayor rapidez que los humanos, resultando de gran utilidad ya que avisan del peligro y permiten tomar medidas antes de que se desencadene la enfermedad en las personas; los perros, gatos, pájaros domésticos, etc. pueden mostrar síntomas cuando el daño en sus propietarios aún sea subclínico (Beck et al., 2020).

Para que las investigaciones resulten lo menos dañinas posibles para el animal, las muestras de tejidos internos se toman aprovechando otras intervenciones quirúrgicas como puede ser una castración, o se toman de animales que han fallecido o que han sido eutanasiados por otras razones ajenas a la intoxicación. También se realizan extracciones de sangre en los controles veterinarios de rutina, y las muestras de pelo y piel no suponen ningún problema al no ser invasivas. Se ha visto que las mascotas son buenos centinelas para advertir de muchos riesgos por contaminación ambiental, pero siguiendo el hilo de este trabajo se hablará de los datos recabados sobre un metal pesado, concretamente el mercurio. Se ha comprobado que los síntomas de intoxicación aguda por Hg en los seres humanos comienza a las 6-48 horas desde la exposición, mostrando una progresión de síntomas como tos seca, taquipnea, hipoxia y distrés respiratorio. Los síntomas típicos de este tipo de intoxicación también incluyen alteraciones neurológicas, hematológicas y gastrointestinales. Sin embargo, los animales de compañía muestran estos síntomas a los pocos minutos u horas de la exposición (Beck et al., 2020).

En cuanto a la exposición crónica a Hg, uno de los acontecimientos más importantes y con más repercusiones fue el desastre ocurrido en Minamata (Japón) en los años 50, después de que la industria química *Chisso* hubiera estado vertiendo sus residuos cargados de Hg a las aguas de la zona durante años. Contaminaron el agua y en consecuencia las formas de vida que había en ella, incluyendo los peces que servían de alimento a los gatos callejeros de esa ciudad. Se denominó “fiebre del gato bailarín”, ya que los animales mostraban ataxia y convulsiones (Sousa et al., 2013; Beck et al., 2020). Cuatro décadas después, los perros, gatos, cisnes y personas que vivían en las proximidades aún mostraban signos de intoxicación neurológica. Para ser más específicos, los síntomas en las personas son trastornos sensoriales, ataxia, contracción concéntrica del campo visual y desordenes auditivos, aunque en los casos más extremos puede producir la muerte. Además, los hijos nacidos de madres expuestas pueden desarrollar la llamada “Enfermedad de Minamata fetal”, similar a la observada en los adultos pero con algunas variaciones. Descubierta en 1956, la causa definitiva de esta enfermedad no fue identificada hasta 1968 (Beck et al., 2020) y posteriormente sirvió para firmar el Convenio de Minamata, que entró en vigor en el 2017 y cuyo objetivo es proteger la salud humana y medioambiental de las emisiones de mercurio (ONU, 2021).

Siguiendo con la exposición crónica a Hg, en la década de los 60 ocurrió un incidente parecido en la ciudad de Niigata (Japón) debido a los vertidos contaminados de metilmercurio de la industria *Showa Danko*. En este caso también fueron los gatos los que mostraron los síntomas en primer lugar, y 3-12 meses después los humanos. Cabe especificar que la intoxicación aguda ocurre normalmente por vía inhalatoria, mientras que la exposición crónica

se da por otras muchas vías; en los casos de Minamata y de Niigata, esta fue digestiva a través de alimentos contaminados (Beck et al., 2020).

Las limitaciones que se han observado a la hora de emplear mascotas como animales centinela es que no todas las sustancias tóxicas afectan a todas las especies por igual, es decir, que algunos elementos pueden tolerarse mejor por las mascotas que por las personas, y viceversa, como algunas plantas que son tóxicas para los animales pero no para los humanos. En el peor de los casos aparecerían mascotas asintomáticas junto a propietarios que ya han desarrollado la enfermedad, aunque no parece ser el caso de los metales pesados (Beck et al., 2020).

Según otras pruebas realizadas con perros para cuantificar los niveles de Hg en sangre y en el pelo, se demostró que estos niveles eran proporcionales a los de sus dueños, comprobando que estas mascotas actúan satisfactoriamente como animales centinela, y se propuso realizar este tipo de análisis en los controles veterinarios de rutina para velar por la salud de todos los miembros de la casa (Sousa et al., 2013), opción que parece útil pero poco práctica por el tiempo y el trabajo que eso supondría a los especialistas.

Esta investigación se llevó a cabo tomando muestras de 26 perros que acudían a controles rutinarios, y se tomaron datos sobre su sexo, edad, raza y dieta. Finalmente no se observó ninguna diferencia entre machos y hembras, ni tampoco entre animales jóvenes y geriátricos. En este caso, los niveles de Hg estaban dentro del rango de normalidad, y se observó que la tasa de eliminación del metal en las mascotas era muy similar a la de las personas (Sousa et al., 2013).

Otro dato importante que se ha demostrado es que el consumo de pescado es un factor esencial que puede determinar unos niveles u otros de exposición a Hg (Sousa et al., 2013; Simionov et al., 2020): se trata de una de las fuentes principales de exposición para los gatos, ya que forma una parte importante de su dieta, y así lo confirman los datos recabados en Japón tras el accidente de Minamata. Sin embargo, los perros no suelen ingerir grandes cantidades de pescado, así que reciben la exposición al metal por otras vías. Según los estudios, aquellos perros que consumen más pescado son los que también presentan niveles más altos de Hg en su organismo, en comparación con aquellos que se alimentan casi exclusivamente de marcas comerciales de pienso (Sousa et al., 2013) cuyos niveles de Hg están regulados por la legislación estatal (Art. 3, RD 465/2003, de 25 de abril).

En la actualidad cada vez menos propietarios comparten su comida con sus perros y gatos, prefieren optar por piensos por su comodidad y porque de este modo sus mascotas

reciben una alimentación sana y equilibrada. Teniendo en cuenta que la principal vía de exposición al meHg es la dieta, sobre todo a través del consumo del pescado, si un propietario lo incluye en sus comidas pero su mascota no, la exposición que reciben ambos es distinta.

Además de los incidentes ocurridos con el Hg, también existen noticias acerca de sucesos ocurridos con otros metales pesados, como es el caso del plomo y la crisis del agua de Flint (Michigan, EEUU) que sucedió entre 2014 y 2019. El agua de dicho río arrastró el Pb de las tuberías, mezclándolo con el agua de la red pública y llevándola a los hogares, contaminada. Se calcula que entre 6.000 y 12.000 niños fueron expuestos al agua con excesivos niveles del metal, mostrando posteriormente retraso del desarrollo cerebral, disminución del coeficiente intelectual, anemia, problemas de audición, cardiovasculares y del comportamiento. Por otro lado, los adultos mostraron hipertensión sistémica, disminución de la fertilidad y patologías cardíacas y renales (NRDC, 2018). Según los análisis realizados a las mascotas de los ciudadanos afectados, estas mostraban niveles de Pb en sangre 4 veces superiores a los fisiológicos (Levin et al., 2021), y de haberlo detectado antes se habrían podido tomar medidas de control antes de que el daño llegara a las personas.

Además, se sabe que en cuanto a las familias que viven en las proximidades de cualquier horno de fundición cerrado, el 10% de las personas y el 30% de sus mascotas sufren una exposición excesiva a Pb, y que los niveles en sangre de las mascotas que se encuentran cerca de zonas urbanas son más elevados que los de aquellas que habitan más lejos, (Levin et al., 2021), al igual que ocurría con los gorriones y las palomas que se han descrito en apartados anteriores. Otro ejemplo de la precocidad con la que los bioindicadores muestran signos de exposición a metales pesados en comparación con los seres humanos, y de la utilidad de la misma.

CONCLUSIONES

Tras la realización de esta revisión bibliográfica sobre el papel de los bioindicadores para evaluar la exposición y los efectos tóxicos inducidos por los metales pesados, se ha podido llegar a las siguientes conclusiones:

- i. Un buen bioindicador es aquel que reacciona a los xenobióticos de su entorno, que ha sido estudiado previamente, que permite la toma de muestras y que bioacumula las sustancias tóxicas en su organismo, entre otros. No existe el bioindicador perfecto; cada uno aporta una clase de información y la clave está en la variedad. Así, los grandes depredadores son los que sufren un mayor efecto de bioacumulación y biomagnificación, las especies que habitan cerca del suelo son las que reciben una mayor exposición a los contaminantes presentes en la tierra y en los sedimentos, y las mascotas son las que aportan mayor información sobre el estado de contaminación de los hogares.
- ii. Un buen biomarcador es aquel que es específico para el metal pesado que se quiera estudiar, que existan técnicas para evaluarlo y que permita distinguir entre toxicidad aguda y crónica, entre otros. Tampoco existe el biomarcador perfecto; lo ideal consiste en disponer de una amplia variedad de ellos para recopilar información de diferentes fuentes, teniendo en cuenta que en ocasiones los efectos secundarios de la exposición no se manifestarán hasta tiempo después de que esta haya cesado.
- iii. Algunos factores que influyen en la toxicidad de los metales pesados son la dosis, la vía de exposición, las condiciones ambientales, la edad del ser vivo, su peso, dieta y estado de salud. En el futuro son necesarios más estudios del efecto conjunto de varios metales pesados o de forma combinada con otros contaminantes, reproduciendo lo que ocurre en los ecosistemas.
- iv. Se debe tener especial cuidado con aquellas especies que forman parte de la dieta de los seres humanos, para reducir lo máximo posible la exposición humana por esa vía.
- v. Los programas de protección medioambiental deben prestar mucha atención a los signos de intoxicación que muestran los seres vivos, ya que generalmente lo hacen de manera precoz y eso permite tomar medidas de control antes de que afecte a los seres humanos.

Como mensaje final, insistir en que para velar por la salud medioambiental, humana y del resto de especies que habitan en el planeta Tierra es esencial seguir apostando por investigaciones en torno a los bioindicadores y biomarcadores que ya se conocen (sobre todo aquellos que sean menos invasivos y fáciles de determinar), además de buscar nuevos.

CONCLUSIONS

After completing this bibliographic review on the role of bioindicators to evaluate the exposure and toxic effects induced by heavy metals, the following conclusions have been reached:

- i. A good bioindicator should react to xenobiotics in its environment, has been previously studied, allows taking samples and bioaccumulates toxic substances in its body, among other things/aspects. There is no perfect bioindicator; each one provides a kind of information and the key is variety. Thus, large predators are the ones that experience the greatest bioaccumulation and biomagnification effect, the species that live closer to the ground are the ones that receive the greatest exposure to pollutants in soil and sediments, and pets provide the most valuable information about the contamination status of households.
- ii. A good biomarker should be specific to the heavy metal that is being studied, with available techniques to evaluate it allowing the distinction between acute and chronic toxicity. There is also no perfect biomarker; ideally, a wide range of biomarkers should be available to collect information from different sources, taking into account that sometimes the side effects of exposure will not manifest until long after exposure has stopped.
- iii. Factors influencing the toxicity of heavy metals include dose, route of exposure, environmental conditions, age, weight, diet and health status. In the future, more studies are needed on the combined effect of several heavy metals or in combination with other pollutants, reflecting what happens in ecosystems.
- iv. Particular care should be taken with those species that are part of the human diet, to minimize exposure by this route.
- v. Environmental protection programmes should pay close attention to signs of poisoning in living beings, due to the fact that they usually show symptoms earlier and this allows control measures to be taken before it affects humans.

As a final message, to ensure the health of the environment, humans and the rest of the species that inhabit the Earth planet, it is essential to continue investing in research on known bioindicators and biomarkers (especially those that are less invasive and easy to determine), as well as finding new ones.

VALORACIÓN PERSONAL

La realización de este Trabajo de Fin de Grado me ha servido para poner en práctica muchos conocimientos adquiridos en varias asignaturas cursadas a lo largo de la carrera, como Fisiología, Biología, Bioquímica, Toxicología, Higiene e Inspección de los alimentos, etc. Además, me ha enseñado a realizar búsquedas bibliográficas en bases de datos científicas como Pubmed o Google Académico, y a filtrar dichas búsquedas para encontrar la información más actualizada sobre un tema en concreto, algo que creo voy a seguir utilizando en el mundo laboral. También he leído artículos de revistas científicas que me han parecido muy interesantes para la formación continua en esta profesión.

Por otro lado, he profundizado en mi conocimiento sobre los metales pesados, la ecotoxicología, los animales centinela, los biomarcadores, y la función de todos ellos para mantener el equilibrio de los ecosistemas y “Una sola salud”, un tema que cada vez está adquiriendo más peso en las gestiones medioambientales.

BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2015). **Metales pesados**. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/metales_pesados.htm [Consultado el 01-09-2021]
- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2020). **Cadmio**. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/cadmio.htm [Consultado el 01-09-2021]
- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2020). **Recomendaciones de consumo de pescado por presencia de Mercurio**. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/mercurio.htm [Consultado el 31-08-2021]
- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2021). **Arsénico**. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/arsenico.htm [Consultado el 01-09-2021]
- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2021). **Plomo**. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/plomo.htm [Consultado el 01-09-2021]
- Anze, R., Franken M., Zaballa M., Pinto M^a R., Zeballos G., Cuadros M^a de los Á., Canseco Á., De la Rocha A., Estellano V.H. y Del Granado S. (2007). "Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia.". **Red de Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente**, junio 2007, pp. 53-72. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/277502418_Bioindicadores_en_la_deteccion_de_la_contaminacion_atmosferica_en_Bolivia [Consultado el 13-07-2021]
- Basu, N., Scheuhammer A.M., Bursian, S.J., Elliott, J., Rouvinen-Watt, K., Man Chan, H. (2007). "Mink as a sentinel species in environmental health.". **Environmental research**, 103, pp. 4-8. doi: 10.1016/j.envres.2006.04.005.
- Beck, A.C., Lash, E.M., Hack, J.B. (2020). "Environmental toxic exposures using companion animals as an indicator of human toxicity: a case report and discusión.". **The journal of emergency medicine**, 59 (1), pp. 4-6. doi: 10.1016/j.jemermed.2020.04.026.
- Binelli, A., Torre, C.D., Magni, S., Parolini, M. (2015). "Does zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) represent the freshwater counterpart of *Mytilus* in ecotoxicological studies? A critical review.". **Environmental pollution**, 196, pp. 386-403. doi: 10.1016/j.envpol.2014.10.023.

- Branco, V., Caito, S., Farina, M., Teixeira da Rocha, J.B., Aschner, M., Carvalho, C. (2017). "Biomarkers of mercury toxicity: past, present and future trends.". *Journal of toxicology & environmental health: part B*, 20 (3), pp. 119-154. doi: 10.1080/10937404.2017.1289834.
- Cooper, C.A., Tait, T., Gray, H., Cimprich, G., Santore, R.C., McGeer J.C., Wood, C.M., Smith, D.S. (2014). "Influence of salinity and dissolved organic carbon on acute Cu toxicity to the rotifer *Brachionus plicatilis*.". *Environmental science and technology*, 48 (2), pp. 54-57. doi: 10.1021/es402186w.
- Di Lorenzo, M., Barra, T., Rosati, L., Valiante, S., Capaldo, A., De Falco, M., Laforgia, V. (2020). "Adrenal gland response to endocrine disrupting chemicals in fishes, amphibians and reptiles: A review.". *General and comparative endocrinology*, 297, pp. 5-7. doi: 10.1016/j.ygcen.2020.113550.
- Dibbern, M., Elmeros, M., Dietz, R., Sondergaard, J., Michelsen, A., Sonne, C. (2021). "Mercury exposure and risk assesment for Eurasian otters (*Lutra lutra*) in Denmark.". *Chemosphere*, 272, pp. 1-7. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129608.
- Dos Santos, R.L., de Sousa Correia, J.M., dos Santos, E.M. (2021). "Freshwater aquatic reptiles (Testudines and Crocodylia) as biomonitor models in assessing environmental contamination by inorganic elements and the main analytical techniques used: a review.". *Environmental Monitoring & Assessment*, 193 (498), pp. 1-6. doi: 10.1007/s10661-021-09212-w.
- El-Gendy, K.S., Gad, A.F., Radwan, M.A. (2020). "Physiological and behavioral responses of land molluscs as biomarkers for pollution impact assesment: A review.". *Environmental research*, 193, pp. 2-10. doi: 10.1016/j.envres.2020.110558.
- España. Real Decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal. *Boletín Oficial del Estado*, 29 de abril de 2003, núm. 102. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/rd/2003/04/25/465/con> [Consultado el 07-09-2021]
- Fernández, R. (2016). "*Respuestas biológicas a contaminantes del entorno de Doñana. Integración de metodologías ómicas que evalúan el estrés ambiental en animales de ecosistemas acuáticos*". Tesis doctoral. Universidad de Córdoba. Disponible en: <https://core.ac.uk/reader/60904930> [Consultado el 06-07-2021]
- Gildardo, J. (2016). *Bioindicadores*. Disponible en: <https://es.slideshare.net/AngelaAristizabal5/bioindicadores-62481512> [Consultado el 14-07-2021]
- González, S., Ballesteros-Gómez, A., Asimakopoulos, A., Jaspers, V. (2021). "A review on contaminants of emerging concern in European raptors (2002-2020)". *Science of the total environment*, 760, pp. 13-15. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143337.

- Gribble, K.E. (2021). "Brachionus rotifers as a model for investigating dietary and metabolic regulators of aging.". *Nutrition and Healthy Aging*, 6 (1), pp. 1-15. doi: 10.3233/NHA-200104.
- Hermoso M., Soler F. y Pérez M. (2008). "Los mamíferos salvajes terrestres como bioindicadores: nuevos avances en Ecotoxicología.". *Observatorio medioambiental*, 11, pp. 44. Disponible en: <https://revistas.ucm.es/index.php/OBMD/article/view/OBMD0808110037A> [Consultado el 10-07-2021]
- International Agency for Research on Cancer (2021). *Agents classified by the IARC monographs, volumes 1–129*. Disponible en: <https://monographs.iarc.who.int/agents-classified-by-the-iarc/> [Consultado el 12-09-2021]
- Israel (2020). mispeces.com. El portal de la acuicultura. Disponible en: <https://www.mispeces.com/noticias/Investigadores-disenan-un-sistema-de-produccion-de-huevos-en-reposo-de-rotiferos-para-produccion-masiva/> [Consultado el 05-07-2021]
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., Beeregowda, K. N. (2014). "Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals.". *Interdisciplinary toxicology*, 7 (2), pp. 60-72. doi: 10.2478/intox-2014-0009.
- Kovacevic, M., Hackenberger, D.K., Loncaric, Z., Hackenberger, B.K. (2021). "Measurement of multixenobiotic resistance activity in enchytraeids as a tool in soil ecotoxicology.". *Chemosphere*, 279, pp. 130-549. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.130549.
- Levin, R., Vieira, C.L.Z., Rosenbaum, M.H., Bischoff, K., Mordarski, D.C., Brown, M.J. (2021). "The urban lead (Pb) burden in humans, animals and the natural environment.". *Environmental research*, 193, pp. 1-20. doi: 10.1016/j.envres.2020.110377.
- Li, X.D., Wang, X.Y., Xu, M.E., Jiang, Y., Yan, T., Wang, X.C. (2020). "Progress on the usage of rotifer *Brachionus plicatilis* in marine ecotoxicology: A review.". *Aquatic Toxicology*, 229, pp. 3-8. doi: 10.1016/j.aquatox.2020.105678.
- López-Berenguer, G., Peñalver, J., Marínez-López, E. (2020). "A critical review about neurotoxic effects in marine mammals of mercury and other trace elements.". *Chemosphere*, 246, pp. 1-14. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125688.
- López-Pedrouso, M., Varela, Z., Franco, D., Fernández, J.A., Aboal, J.R. (2020). "Can proteomics contribute to biomonitoring of aquatic pollution? A critical review.". *Environmental pollution*, 267, pp. 1-12. doi: 10.1016/j.envpol.2020.115473.
- Loureiro, A., Bazzoli, N. (2021). "Heavy metals affecting Neotropical freshwater fish: A review of the last 10 years of research.". *Aquatic Toxicology*, 237, pp. 1-7. doi: 10.1016/j.aquatox.2021.105906.

- Ministerio para la transición ecológica y el reto demográfico (2021). **Mercurio**. Disponible en: <https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/mercurio/> [Consultado el 12-09-2021]
- Nabinger, D.D., Altenhofen, S., Rodrigueus Bitencourt, P.E., Nery, L.R., Leite, C.E., Ryff, M., Bonan, C.D. (2018). "Nikel exposure alters behavioral parameters in larval and adult zebrafish.". **Science of the Total Environment**, 624, pp. 1623-1633. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.057.
- Natural Resources Defense Council (2018). **Flint water crisis: everything you need to know**. Disponible en: <https://www.nrdc.org/stories/flint-water-crisis-everything-you-need-know> [Consultado el 01-09-2021]
- Organización de las Naciones Unidas (2021). **Convenio de Minamata sobre el Mercurio**. Disponible en: https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/mercurio/acciones_PNUMA.aspx [Consultado el 07-09-2021]
- Parra, E. (2014). "Aves silvestres como bioindicadores de contaminación ambiental y metales pesados.". **CES Salud Pública**, 5 (1), pp. 62-66. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4804774.pdf>. [Consultado el 09-07-2021]
- Pascual, J. (2017). "Animales en las minas que salvaron miles de vidas.". **Naukas**. [Blog]. 13 de septiembre. Disponible en: <https://naukas.com/2017/09/13/animales-en-las-minas-que-salvaron-miles-de-vidas/> [Consultado 13-07-2021]
- Pinto, S. (2018). "¿Qué son los bioindicadores?". **Brutal**. [Blog]. 10 de septiembre. Disponible en: <https://www.brutal.org.es/que-son-los-bioindicadores/> [Consultado el 12-07-2021]
- Razak, M.R., Aris, A.Z., Zakaria, N.A.C., Wee, S.Y., Ismail, N.A.H. (2021). "Accumulation and risk assesment of heavy metals employing species sensitivity distributions in Linggi river, Negeri Sembilan, Malasya.". **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 211, pp. 1-12. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.111905.
- Real Academia Española (2014). **Diccionario de la lengua española** (23ª ed.). Disponible en: <https://dle.rae.es/?w=ecotoxicolog%C3%ADa> [Consultado el 02-09-2021]
- Reif, J. S. (2011). "Animal sentinels for environmental and public health.". **Public Health Reports**, 126 (1), pp. 2-8. doi: 10.1177/00333549111260S108.
- Ruiz-Olmo, J. (2017). Enciclopedia virtual de los vertebrados españoles. Disponible en: <http://www.vertebradosibericos.org/mamiferos/lutlut.html> [Consultado el 01-09-2021]
- Sassia, S., Amine, B., Nadia, B., Hadda, A., Smail, M. (2021). "Investigation of single and combined effects of repeated oral cadmium and lead administration in ewes.". **Scientific African**, 13, pp. 1-26. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00870>

- Simionov, I., Strungaru, S., Petrea, S., Cristea, V., Nicoara, M., Mogodan, A., Oprica, L., Costin, D., Nica, A. (2020). "Heavy metals accumulation in fish reared in a pond ecosystems and health risk evaluation on romanian consumers.". ***The 8th International Conference on E-Health and Bioengineering***. Rumanía, 29-30 octubre 2020. pp. 1-4. Disponible en: <https://ieeexplore-ieee-org.cuarzo.unizar.es:9443/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=9280161> [Consultado el 02-09-2021]
- Sousa, A.C.A., de Sá Teixeira, I.S., Marques, B., Vilhena, H., Vieira, L., Soares, A.M.V.M., Nogueira, A.J.A., Lillebø, A.I. (2013). "Mercury, pet's and hair: baseline survey of a priority environmental pollutant using a noninvasive matrix in man's best friend.". ***Ecotoxicology***, 22 (9), pp. 1435-1442. doi: 10.1007/s10646-013-1130-5.
- Tchounwou P.B., Yedjou C.G., Patlolla A.K., Sutton D.J. (2012) "Heavy metal toxicity and the environment.". ***Molecular, Clinical and Environmental Toxicology, Experientia Supplementum***, 101, pp. 133-150. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6.
- Tlili, S., Mouneyrac, C. (2021). "New changes of marine ecotoxicology in a global change context.". ***Marine pollution bulletin***, 166, pp. 112-242. doi: 10.1016/j.marpolbul.2021.112242.