

MECANISMOS DE TOXICIDAD (5)

C015- EFECTO DEL COBRE SOBRE EL BALANCE OXIDATIVO DE LA ALMEJA DE AGUA DULCE *DIPLODON CHILENSIS*

Sabatini, S.^{1,2}, Roccheta, I.^{2,3}, Luquet, C.^{2,3} & Ríos de Molina, M. C.^{1,2,4}. ¹Dpto. Química Biológica, Fac. Ciencias Exactas y Naturales, Univ. Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. ²CONICET, ³INIBIOMA, Univ. del Comahue, Neuquén, Argentina. ⁴Correo electrónico: mcrios@qb.fcen.uba.ar.

La almeja de agua dulce *Diplodon chilensis* (Hyriidae), abundante en los lagos y ríos del oeste de la Patagonia Argentina, puede filtrar grandes cantidades de fitoplancton y otras partículas en suspensión. Ejemplares de estas almejas se mantuvieron a 20±2° C, fotoperíodo 12:12, durante 6 sem., alimentadas con suspensiones algales de *Scenedesmus vacuolatus* control y tratadas (crecidas en medio BBM conteniendo 6,2 µM y 108 µM de Cu, respectivamente). Los cultivos algales de 7 días se centrifugaron, se lavaron y se agregaron a las peceras, para ser filtradas por las almejas. Semanalmente, se realizaron homogenatos de hepatopáncreas de 6 almejas de cada lote, en KCl 0,154 M 1:5 (p/v). Se determinó: a) contenido de malondialdehído (MDA), mediante la técnica del TBARS, b) niveles de glutatión (GSH) en presencia del ácido 5,5-ditiobis 2-nitrobenzoico (DTNB) y c) actividad superóxido dismutasa (SOD). Paralelamente se determinó la capacidad de las almejas para bioacumular cobre, analizando su contenido en el hepatopáncreas por TXRF (fluorescencia de rayos X por reflexión total). La bioacumulación del metal por las almejas fue significativa a partir de la cuarta semana de tratamiento, al igual que el daño a lípidos (aumento en la peroxidación lipídica) y la respuesta enzimática antioxidante (aumento de la actividad SOD). Un aumento en los niveles de GSH se observó hacia el final de la experiencia. Las modificaciones de estos parámetros sugieren un efecto oxidativo por parte del metal en las almejas y ameritan para proponer a éstas últimas como organismo centinela.

Palabras clave: cobre, *Diplodon chilensis*, *Scenedesmus vacuolatus*, estrés oxidativo, TXRF.

C016- EFECTO DE LA EXPOSICIÓN A METRODINAZOL EN *ALLIUM CEPA*

Andrioli, N.^{1,2}, Sabatini, S.^{3,4}, Mudry, M.^{1,4} & Ríos de Molina, M. C.^{3,4}. ¹Dpto. BBE y ²Dpto. QB, Fac. Ciencias Exactas y Naturales, Univ. Buenos Aires, ³CONICET, Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: nandrioli@hotmail.com.

Allium cepa (cebolla común) es una especie ampliamente utilizada como modelo para ensayos de toxicidad y genotoxicidad. El metronidazol (MTZ) es un compuesto nitroimidazólico de amplio uso en medicina humana y veterinaria para el tratamiento de infecciones bacterianas y con protozoarios anaeróbicos. La reducción del grupo nitro originaría la formación de radicales libres en células anaerobias, mientras que en células aeróbicas dependería del potencial redox. Bulbos de *Allium cepa* se colocaron en oscuridad, con aireación constante en recipientes de vidrio expuestos a una concentración de MTZ de 100 µg/mL, durante 30 horas. Para la medición de los diferentes parámetros, las raíces fueron separadas en zona meristemática y zona de elongación. Se determinó: a) el contenido de malondialdehído (MDA), b) los niveles de glutatión (GSH), c) la actividad superóxido dismutasa (SOD), y d) la relación ácido ascórbico/ácido dehidroascórbico (AA/DHA). En la zona meristemática, el MTZ originó un aumento significativo de las actividades SOD y CAT, como también un aumento en los niveles de GSH y una disminución en la relación AA/DHA, sin aumento en la peroxidación de lípidos. Por otro lado, en la zona de elongación se observó únicamente un aumento en los niveles de GSH como variable de defensa, siendo evidente el incremento en los niveles de TBARS. Los valores obtenidos permiten asociar el daño oxidativo en ambas regiones de la raíz de *Allium cepa* con la exposición al MTZ. A diferencia de lo observado en la zona de elongación, la respuesta antioxidante en la zona meristemática fue suficiente para evitar dicho daño. La mayor actividad de las defensas antioxidantes se encuentra asociada a tejidos con alto consumo de oxígeno (tejido meristemático), lo cual es acorde con los resultados aquí presentados.

Palabras clave: *Allium cepa*, Metronidazol, estrés oxidativo, bioensayo, SOD.

C025- ESTUDIO TEMPORAL DEL EFECTO DE CROMO HEXAVALENTE EN *ESCHERICHIA COLI* ATCC 35218 ADAPTADAS AL TÓXICO

Azario, R.¹, Salvarezza, S.¹, Ibarra, A.¹, Fernández, N.¹ & García, M.¹. ¹Dpto de Materias Básicas. Facultad Regional Concepción del Uruguay – Universidad Tecnológica Nacional, Argentina. Correo electrónico: azricardo@gmail.com.

La resistencia al cromo en los microorganismos es atribuida a diferentes mecanismos como la bioadsorción, reducción de cromo (VI) a (III) y eflujo de cromo de la célula. En un trabajo previo de nuestro grupo, se observó que la tolerancia al cromo hexavalente en *Escherichia coli* ATCC 35218 se desarrolla rápidamente (72 h) en presencia de una concentración del tóxico (0,25 ppm) admisible por la legislación vigente. En este trabajo, se estudió el curso temporal del efecto de cromo (VI) en *Escherichia coli* adaptadas al tóxico. Se usó un cultivo de *E. coli* (ATCC 35218) resistente al cromo (VI) en fase exponencial, empleando como medio de cultivo caldo infusión cerebro corazón. La resistencia al cromo (VI) se obtuvo mediante exposición del microorganismo al tóxico (0,25 y 25 ppm) durante 72 h. Se analizó el efecto de cromo (VI: 25 -500 ppm) sobre el crecimiento bacteriano durante 7 días posteriores a la adaptación. El crecimiento bacteriano fue determinado por espectrofotometría a 650 nm. En *E. coli* no adaptadas al cromo (VI), la velocidad de crecimiento específico es de 0,586 + 0,004 (n=3) mientras que en *E. coli* adaptadas durante 72 h al cromo (VI: 0.25 ppm o 25 ppm) es de 0,638 + 0,001 y 0,586 + 0,004, respectivamente (n=3, p > 0,05). El cromo (VI: 25- 200 ppm; n=3) no inhibió significativamente el crecimiento bacteriano a las 24, 48, 96, 120 y 168 h posteriores a la adaptación. La presencia de 500 ppm de Cr (VI) produjo una inhibición del crecimiento de aproximadamente un 35 %. Se concluye que la adaptación durante 72 h al cromo (VI) tanto en presencia de una baja como de una alta concentración del tóxico confiere al microorganismo una resistencia al cromo de larga duración, probablemente a través de un aumento en la actividad enzimática de reducción del cromo (VI). Por otro lado, el microorganismo tolera concentraciones de cromo superiores a las halladas en efluentes industriales.

Palabras clave: cromo hexavalente, tolerancia, *Escherichia coli* ATCC 35218, bioensayo.

C026- ADSORCIÓN DE CROMO HEXAVALENTE EN *PSEUDOMONA AERUGINOSA*: FACTORES CINÉTICOS

Azario, R.¹, Salvarezza, S.¹, Ibarra, A.¹, Fernández, N.¹ & García, M.¹. ¹Dpto de Materias Básicas. Facultad Regional Concepción del Uruguay – Universidad Tecnológica Nacional, Argentina. Correo electrónico: azricardo@gmail.com.

El incremento en los niveles de metales pesados por la actividad antropogénica ha llevado a la búsqueda de nuevas técnicas de remoción basadas en dos factores: bajo costo y fácil aplicación. En este sentido, el uso de biomateriales es un método potencialmente alternativo a las técnicas convencionales. El objetivo del presente estudio fue analizar los factores cinéticos que afectan la adsorción de cromo (VI) en solución empleando como bioadsorbente un cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*. Se usó un cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 en fase exponencial, a 37° C durante 18 h utilizando caldo BHI. El cultivo fue centrifugado, y el pellet fue lavado con agua destilada y secado en estufa a 80°C durante 3 h. Se realizó un análisis cinético del proceso considerando: pH, tiempo de incubación, concentración de cromo y masa de bioadsorbente. La determinación de cromo se realizó por espectrometría de absorción atómica a 357.9 nm. El cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*, en un rango de masa comprendido entre 50 y 1000 mg, produjo un aumento dosis-dependiente de la adsorción de cromo hexavalente ([Cr]= 20 ppm), alcanzándose un máximo de adsorción a 600 mg (% de adsorción= 42 + 3, n=3). Se estudió la adsorción de cromo (VI: 10 a 100 ppm) en función de la masa de bioadsorbente ensayado. Los porcentajes máximos de adsorción para 600 mg de bioadsorbente fueron de 55 + 2,3; 38,0 + 2,2; 23,0 + 1,4; 16 + 2,0 para 10, 20, 50 y 100 ppm, respectivamente. Por otra parte, la variación en los tiempos de incubación (60, 90, 120 y 480 min) de la mezcla no modificó el porcentaje de adsorción de cromo (VI; 20 ppm). La

acidificación del medio (pH= 1,5) produjo un incremento significativo en la adsorción de cromo. Los resultados obtenidos muestran que la adsorción de cromo (VI) es dependiente del pH de la solución obteniéndose una máxima adsorción a pH ácidos, aumenta al incrementar la biomasa, y no se modifica al variar el tiempo de incubación.

Palabras clave: cromo hexavalente, bioadsorbente, *Pseudomonas aeruginosa*.

C027- EFICIENCIA DE BIOADSORBENTES FRENTE A SOLUCIONES DE CROMO (VI): CÁSCARA DE ARROZ Y PSEUDOMONA AERUGINOSA

Azario, R.¹, Salvarezza, S.¹, Ibarra, A.¹, Fernández, N.¹ & García M.¹. ¹Dpto de Materias Básicas. Facultad Regional Concepción del Uruguay – Universidad Tecnológica Nacional, Argentina. Correo electrónico: azricardo@gmail.com.

El uso de biomateriales muestra un gran potencial para la eliminación de metales pesados en aguas residuales. La capacidad de adsorción es dependiente del tipo de adsorbente y de la naturaleza del effluente tratado. En este trabajo se analiza la eficiencia de remoción de cromo (VI) mediante el uso de dos bioadsorbentes: cáscara de arroz y un cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*. La cáscara de arroz fue activada químicamente con hidróxido de potasio 1% y secada en estufa a 100°C. El bioadsorbente *P. aeruginosa* se obtuvo a partir de un cultivo de una cepa ATCC 27853 en fase exponencial, a 37° C durante 18 h utilizando caldo BHI. El cultivo fue centrifugado, y el pellet secado a 80°C. La eficiencia de adsorción se determinó en presencia de una solución unimetal de cromo (VI: 20 ppm) o de una solución multimetal representativa de un effluente industrial (plomo, cromo y cadmio), tiempo de contacto de 60 min y a 20°C. La determinación de cromo se realizó por espectrometría de absorción atómica a 357,9 nm. Se analizó la adsorción de cromo hexavalente (20 ppm) obtenido con diferentes masas de los bioadsorbentes ensayados. La cáscara de arroz posee una adsorción máxima de aproximadamente el 90% mientras que el cultivo de *P. aeruginosa* presenta una adsorción del 45%. Por otro lado, la eficiencia de adsorción obtenida con ambos bioadsorbentes para soluciones unimetales de cromo no difiere de la obtenida con una solución multimetal (cadmio, cromo y plomo) representativa de un effluente industrial. Se concluye que en las condiciones experimentales ensayadas, la cáscara de arroz es más eficaz para la adsorción de cromo (VI) en solución respecto al cultivo de *P. aeruginosa*. Por otro lado, la presencia de otros metales pesados no interfiere significativamente en la adsorción de cromo (VI) por los bioadsorbentes estudiados.

Palabras clave: cromo hexavalente, bioadsorbentes, *Pseudomonas aeruginosa*, cáscara de arroz.

C044- EFECTOS DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN MITOCONDRIAS DE LA PLACENTA HUMANA

Papa-Gobbi, V.^{1,2}, Sabino, G.¹, Magnarelli, G.¹ & Rovedatti, M.G.¹. ¹LIBIQUIMA, UE CONICET-Comahue, Universidad Nacional del Comahue (UNCo), Buenos Aires 1400, 8300, Neuquén, Argentina. Correo electrónico: ²puyen@live.com.ar.

En la placenta humana han sido detectados diversos contaminantes que aumentan los niveles de las especies reactivas de oxígeno (ROS) intracelulares como plaguicidas, metales pesados, dioxinas y PCBs. Considerando que este órgano constituye una interfase funcional esencial para el desarrollo fetal y que el balance redox es clave en su fisiopatología, el objetivo de este trabajo fue estudiar la susceptibilidad al estrés oxidativo de los dos tipos de mitocondrias presentes en este órgano. Se aislaron las mitocondrias livianas (ML), propias del sincitiotrofoblasto y las pesadas (MP), del citotrofoblasto por centrifugación diferencial a partir de vellosidades de placenta a término (n=9). Se incubaron con 1, 5 y 10 mM de H₂O₂ durante 60 minutos, determinándose la actividad de catalasa (CAT), el nivel de peróxidos lipídicos (PL) y de proteínas carboniladas (PC) por métodos espectrofotométricos. El ANOVA de dos factores indicó una disminución dosis dependiente y altamente significativa de CAT (p < 0,01) y un aumento significativo de PL (p < 0,05) a partir de la concentración 5 mM, mientras que CP no se afectó (p < 0,17). Para ninguna de estas variables se observaron diferencias significativas entre ambos tipos de mitocondrias. Estos resultados indican que ML y MP presentan una susceptibilidad semejante al estrés oxidativo y que dicha susceptibilidad se evidencia a concentraciones relativamente altas de H₂O₂. Sugieren, además, que el exceso de ROS generado por exposición a tóxicos ambientales podría comprometer la funcionalidad de ML y MP a nivel de la producción de ATP y de progesterona, afectando el desarrollo fetal.

Palabras clave: ROS, estrés oxidativo, placenta, mitocondrias.

Agradecimientos: a J. Aguilar Zapata, T. Solari y V. Zanelli, Servicio de Toxoginecología, Clínica San Lucas por la obtención de muestras. Subsidio de UNC.

C049- VIABILIDADE CELULAR E FENÓTIPO MXR EM BRÂNQUIAS DE CRUSTÁCEOS DIANTE DE EXPOSIÇÃO AO CHUMBO

Amado, E.M.¹, Freire, C.A.² & Souza, M.M.³. ¹Programa de PG em Biologia Celular e Molecular, ²Departamento de Fisiologia Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. ³Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: eneliseamado@yahoo.com.br.

Objetivos: Metais pesados, como o chumbo (Pb), podem atingir os corpos d'água através do despejo de rejeitos industriais e domésticos. O epitélio branquial de animais aquáticos é o primeiro órgão a ter contato com os metais presentes na água e serve de via de entrada para estes, assim como alvo de sua toxicidade. Vários organismos são, no entanto, capazes de viver em ambientes com altos níveis de xenobióticos. Essa resistência a multixenobióticos (MXR) é atribuída à glicoproteína P (P-gp) transmembrana que previne as células de acumularem xenobióticos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a toxicidade do Pb sobre células branquiais e atividade da P-gp nas brânquias dos crustáceos *Callinectes ornatus* e *Hepatus pudibundus*. Métodos: Os animais foram crioadestesiados e suas brânquias retiradas; para a viabilidade celular, as células foram dissociadas mecanicamente em PBS livre de Ca²⁺ + EDTA, expostas a condição controle (salina correspondente a hemolinfa do animal) e a 1, 10, 20 e 40µM de Pb(NO₃)₂, por 1, 3 e 6 h. As células foram então submetidas ao teste de viabilidade celular através do método de exclusão por azul de tripano. Para a atividade da P-gp o tecido branquial foi exposto às mesmas condições anteriores por 3 h e foi então realizado o ensaio de acúmulo do fluorescente rodamina (substrato da P-gp). Resultados: A viabilidade das células branquiais de *C. ornatus* na presença de 40µM de Pb diminuiu já em 1 hora de exposição (28,5%) e a partir de 3 h a viabilidade caiu em todas as concentrações testadas (32,8 - 55,8%). No entanto, a viabilidade das células de *H. pudibundus* quando expostas ao chumbo, diminuiu em 10, 20 e 40µM já em 1 h de exposição (~19%). A partir de 3 h, todas as concentrações de chumbo exercem efeito sobre a viabilidade (20 - 45%). Em relação à atividade da P-gp, não houve diferença estatística entre o controle e as concentrações de Pb testadas em ambas as espécies em função do tamanho amostral (n = 5). Entretanto, há uma forte tendência à maior expressão do fenótipo MXR na concentração de 10µM (acúmulo de rodamina 68,1 e 73,6% do controle, para *C. ornatus* e *H. pudibundus* respectivamente), assim como inibição do mesmo nas concentrações superiores (124% do controle para *C. ornatus*). Conclusões: A toxicidade do chumbo sobre as células branquiais de ambas as espécies é dose e tempo de exposição dependente. Os resultados sugerem que o Pb tem um efeito inibitório sobre MXR a partir de 20µM, concentração esta identificada como tóxica às duas espécies. Apoio financeiro: CNPq, DAAD.

Palavras-chave: chumbo, brânquias, crustáceos, viabilidade, MXR.

C069- O EFEITO DE DHA, LA E FULERENO SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE ESPÉCIES ATIVA DE OXIGÊNIO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM SUSPENSÕES CELULARES DE CÉREBRO DE CARPA *CYPRINUS CARPIO* (PISCES, CIPRINIDAE)

Acosta, D.S.¹, Kneip, F.C.¹, Monserrat, J.M.¹ & Geracitano, L.A.M.^{1,3} Instituto de Ciências Biológicas, FURG – Pós Graduação em Fisiologia Animal Comparada. AV. Itália KM 8 s/n. Brasil.

O trabalho tem por objetivo estudar diferentes ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) em destaque ômega-3, visto a importância deste no metabolismo. Juntamente com o estudo dos PUFAs (ômega -3 e ômega-6) tem-se a pretensão de analisar o comportamento de uma nanopartícula (fulereno -C60) na presença de tais ácidos em suspensões celulares de cérebro de carpa *Cyprinus carpio* (Pisces, Ciprinidae). Visto isto, a presença de PUFAs é de fundamental importância nas respostas bioquímicas e fisiológicas do organismo, tendo relevância maior para o cérebro, onde atua na composição dos ácidos graxos de suas células. Neste estudo foram utilizados os PUFAs: ácido docosahexaenóico-DHA (ômega-3) e ácido Linoleico-LA (ômega-6). O efeito dos PUFAs e sua interação com o C60 estão sendo avaliados numa perspectiva dentro de estresse oxidativo, através das seguintes análises bioquímicas: ROS (avalia a concentração de espécies ativas de oxigênio) e TBARS (avalia a peroxidação lipídica). Inicialmente foi feita uma pré-exposição aos PUFAs por 48 h, em seguida uma exposição ao C60 2 horas para posteriores análises bioquímicas. Para TBARS os resultados foram diferentes de acordo com a pré-exposição das suspensões aos PUFA. No caso do controle e do PUFA ômega-6, não houve diferença significativa entre as amostras com e sem C60 apesar de haver uma tendência), porém ambas apresentaram diferença significativa com o controle positivo (peróxido de hidrogênio). Já no caso do PUFA ômega-3, todas as diferenças foram significativas, sendo que a média mais baixa de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico foi da combinação DHA-C60. É interessante mencionar que, apesar da diferença não ser significativa, houve uma tendência do C60 a ser pró-oxidante na ausência de pré-exposição a PUFA e antioxidante com pré-exposição a PUFA. Ao comparar todos os tratamentos juntos, os dados revelam uma tendência de queda de todos os tratamentos com C60 em relação aos seus controles, no entanto, apresentaram diferença significativa apenas entre C60 sem ácido graxo e DHA sem C60. Ao comparar cada pré-tratamento com e sem C60, foi encontrada diferença significativa apenas no caso do DHA. Esse resultado indica uma possível ação antioxidante do C60 e pró-oxidante do DHA. Nesse cenário apresentado se torna claro que o C60 atuou como um antioxidante nas duas análises realizadas, apresentando melhores resultados nas interações com os PUFAs. No caso de TBARS, a função antioxidante do C60 fica evidenciada em conjunto com DHA e LA.

Palavras-chave: fulereno, omega-3, omega-6, estresse oxidativo, *Cyprinus carpio*.

C071- MECANISMOS DE ACUMULAÇÃO DO COBRE EM CÉLULAS BRANQUIAIS ISOLADAS DE *MESODESMA MACTROIDES*

Sega-Nogueira, L.^{1}, Bento de Oliveira, C.² & Bianchini, A.^{1,2}* Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas: Fisiologia Animal Comparada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande-FURG, Av. Itália, km 8, 96201-900, Rio Grande, RS, Brazil. ² Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande-FURG, Av. Itália, km 8, 96201-900, Rio Grande, RS, Brazil. * E-mail: lygianogueira@hotmail.com.

No ambiente marinho, a captação, distribuição e disposição dos metais pelos organismos aquáticos são tipicamente governadas por processos bioquímicos altamente específicos. As habilidades de transferência através das membranas celulares que os metais possuem é claramente um fator determinante nas suas ações tóxicas. Esta habilidade reflete na absorção, distribuição corporal e excreção do metal, sendo, portanto, determinante em sua toxicocinética. Especialmente para o cobre, assume-se que a toxicidade ocorre como resultado da reação do metal livre com sítios de ligação fisiologicamente ativos nas brânquias de animais de respiração aquática. Durante a interação do cobre com a brânquia, este é reduzido para Cu^+ , ainda que no ambiente aquático ele seja um íon predominantemente bivalente. Este metal compete com outros cátions como Na^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} pelos sítios de incorporação destes elementos em nível branquial, sugerindo, portanto, que os processos de assimilação e acumulação deste metal envolve os mecanismos de transporte de cátions operantes nas membranas biológicas. Desta forma, no presente estudo, a cinética de acumulação do cobre foi caracterizada em células branquiais isoladas do marisco *Mesodesma mactroides*. Em uma concentração ambientalmente relevante de cobre (1 M Cu), avaliou-se por espectrofotometria de absorção atômica, o envolvimento de diferentes mecanismos de transporte (canais de Na^+ , K^+ e Cl^- , co-transportadores Na^+/K^+2Cl^- e Na^+/Cl^- , trocadores Na^+/Ca^{2+} , Cl^-/HCO_3^- e Na^+/H^+) e enzimas associadas (Na^+/K^+ -ATPase, V-ATPase e anidrase carbônica) na acumulação do cobre, através da utilização de diferentes ferramentas farmacológicas. Os resultados mostraram que uma cinética de acumulação do cobre do tipo saturação (mediada por transportadores) ocorre em concentrações ambientais relevantes de cobre (0-5 M Cu), enquanto uma cinética do tipo linear (transporte difusivo) é observada em maiores concentrações de cobre (4-40 M Cu). Quanto aos mecanismos de acumulação, os dados do presente estudo oferecem evidências indiretas que o cobre entra nas células branquiais do marisco *M. mactroides* através do trocador Na^+/H^+ , atraído pela eletronegatividade citoplasmática.

Palavras-chave: Acumulação, marisco, brânquia, transporte iônico, *Mesodesma mactroides*.

C086- MODULATIONS OF ANTIOXIDANT DEFENSES IN THE FIRE SCALLOP *LIMA SCABRA* (PTERIOIDEA: LIMIDAE) EXPOSED TO USED VEHICLE CRANKCASE OIL

Zapata-Vívenes, E.¹, Sánchez, G.², Nusetti, O.¹ & Marcano, L.¹ Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, Venezuela. Postgrado en Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Venezuela. *E-mail: edzapata2002@yahoo.com.

The activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), catalase (CAT) and glutathione-S-transferase (GST) were examined in several tissues of the bivalve *Lima scabra* after of 7 and 13 d-exposure to a 0.01, 0.1 and 1.0% of the water-soluble fractions (WSF) of vehicle waste crankcase oil. This WSF is a source of polyaromatic hydrocarbons and heavy metals in tropical marine ecosystems. Additionally, the sulphhydryl groups and malondialdehyde (MDA) levels were determinate to know the antioxidant molecules concentrations and oxidative damage. *L. scabra* were collected from coral reefs in the Mochima Bay, Sucre state, Venezuela, then transported to laboratory and kept in aquaria system (1 animal/liter) in well-aerated seawater. Detoxification and antioxidant enzymes were measured in the digestive gland, adductor muscle and gills. SOD and GR activities presented changes in the muscle and gill in both exposure period; GPx activity increased significant in the all organs evaluated during the chronic period; an increase in the GST activity was observed in the gill in both exposure periods; CAT activity showed a drop only in the adductor muscle in exposed organisms. The organic and inorganic substances contained in WSF can be biotransformed redox-cycling way in soft tissues, promoting the generation of species reactive of oxygen (EROS) and increased of the levels of MDA when the antioxidant defenses are exceeded. The increase in the enzymatic activities in the different organs suggests an effective compensatory responses mechanism in presence of pollutant mixture. Somehow, *L. scabra* appears suitable as an excellent experimental organism to evaluate biological risks to the sublethal exposure to hazardous xenobiotics in coralline ecosystems.

Key words: Antioxidant enzymes, crankcase oil, *Lima scabra*, species reactive of oxygen, water-soluble fraction.

C0141- MONITOREO AMBIENTAL BASADO EN ESTUDIOS HISTOLÓGICOS DE HEPATOPÁNCREAS Y GÓNADAS EN NACELLA CONCINNA (STREBEL, 1908) (GASTROPODA: PATELLIDAE) (BAHÍA MAXWELL, ANTÁRTIDA)

Neuberger-Cywiak, L.¹, Rossini, M.² & Najle, R.³. ¹Dirección de Investigación y Postgrado, Universidad Marítima del Caribe, Caracas, Venezuela. ²Facultad de Veterinaria, Núcleo Maracay, Universidad Central de Venezuela, Edo. Aragua, Venezuela. ³Dpto. Cs. Naturales y Exactas. Fac. Cs. Veterinarias. UNCPBA, Tandil, Argentina. Correos electrónicos: lneuberger@umc.edu.ve; lyaneuberger@gmail.com.

La lapa *Nacella (Patinigera) concinna* (Strebel, 1908), es una de las especies sugerida como bioindicador de contaminación ambiental en el ecosistema antártico por su fácil acceso en la zona intermareal, alta densidad en parches, importancia ecológica y resistencia a contaminantes, entre otros. Por estar localizado en la zona intermareal y submareal, se encuentra expuesto a los residuos antropogénicos que drenan de la región costera hacia el mar, ya que en la región de la isla del Rey Jorge / 25 de Mayo, hay estaciones de investigación de los 8 países que operan en ella todo el año. Al incorporarse los contaminantes en forma directa o indirecta dentro de estos invertebrados, pueden ser compartamentalizados en órganos dianas o blancos dentro del cuerpo, en el caso de contaminación por metales pesados, es conocido el hepatopáncreas como órgano blanco. Los cambios histopatológicos son bioindicadores de posibles efectos tóxicos que influyen en la estructura de la célula o tejido, número, talla y forma de organelas específicas. También, el efecto de los contaminantes sobre los tejidos de las gónadas, podrían alterar el esfuerzo reproductivo y la fecundidad, pudiendo retrasar la madurez sexual, reducción de la fecundidad, menor porcentaje de eclosiones y/o menor supervivencia, lo que conllevaría a la disminución del *fitness* o adecuación adaptativa. El objetivo de este trabajo es caracterizar el estado del tejido del órgano digestivo y de las gónadas de *N. concinna*, a fin de establecer una línea base en la zona aledaña a la Base Artigas (Uruguay), y realizar biomonitoreos en el tiempo para evaluar el uso de histopatologías como biomarcadores de contaminación. Se cuentan con muestreos de las expediciones venezolanas del año 2008 y 2009. Se realizaron diferentes determinaciones relativas a talla de las células, tamaño de lumen interno celular, número de vacuolas, entre otros, para poder establecer comparaciones posteriores, basado en investigaciones previas sobre cambios celulares por exposición a metales pesados e hidrocarburos. También, se determinó el estadio reproductivo, basado en estudios anteriores realizados en esta especie. Se han observado diferencias entre estaciones situadas cercanas a la base, pero no se ha podido establecer relaciones causa-efecto. Para ello se requiere culminar con estudios relativos a bioacumulación de metales que se están realizando actualmente, terminar de analizar más ejemplares, así como se han planteado nuevas interrogantes a ser investigadas en próximas expediciones.

Palabras clave: Gasterópodos, ecotoxicología, biomarcadores, monitoreo ambiental, histología.

C0171- EVALUACIÓN CITOTÓXICA DE LA ESPECIE DE ALGA VERDE ULVA LACTUCA

Campos-Santaella, Y.¹ & Houghton, P.². ¹Grupo de Farmacognosia, Depto. de Biología, Universidad de Oriente NS. Av. Universidad, Cerro Colorado, Edificio de Ciencias, 1er piso, Lab. EC-B3., Cumaná-Estado Sucre, Venezuela. ²Pharmacognosy Group, Pharmacy Department, King's College London-UK. 150 Stamford street, Waterloo, London 1SE 9NN, United Kingdom. Correo electrónico: ycampos@sucre.udo.edu.ve.

Algunas especies de algas (Chlorophyceae) se desarrollan abundantemente en ambientes naturales con alto grado de eutroficación, lo que sugiere la presencia de mecanismos de defensa que le permiten contrarrestar las condiciones adversas de dichos hábitats. Particularmente, las especies del género *Ulva* son consideradas excelentes indicadores biológicos de contaminación. Es factible, que estas algas posean sustancias activas de interés farmacológico; sin embargo, se tiene escasa información sobre sus propiedades citotóxicas. En tal virtud, la presente investigación planteó como objetivo: Evaluar la actividad citotóxica del alga verde *Ulva lactuca*, proveniente de Playa Culi, Golfo de Cariaco, Estado-Sucre-Venezuela. Ejemplares frescos de la especie *U. lactuca* fueron extraídos exhaustivamente con 100% isopropanol. El filtrado se rotaevaporó a presión reducida y, posteriormente, se liofilizó. El extracto liofilizado se fraccionó aplicando técnicas cromatográficas (TLC, CC, HPLC). La actividad citotóxica se evaluó a partir diluciones de la solución madre (20mg/ml) contra las líneas celulares humanas cancerosas (CORL23 y MCF7), durante 24, 48 y 72h de exposición. Los valores de IC₅₀ registrados indican que, tanto el extracto crudo como la fracción en acetato de etilo, exhiben una actividad citotóxica considerable para CORL23 (11,2±1,1 y 5.04±0,21mg/ml) y MCF7 (9,8±0,8 y 5,04±0,42mg/ml), respectivamente. En general, la línea celular MCF7 fue mostró mayor sensibilidad respecto a CORL23. La especie *Ulva lactuca* se perfila como un excelente candidato para la obtención de moléculas bioactivas, que en un futuro cercano pudieran contribuir a la cura de algunos tipos de cáncer y a mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Palabras clave: *Ulva*, citotoxicidad, cáncer, anti-cancer.

C0210- THE USE OF GENE EXPRESSION AS EARLY BIOMARKERS IN LARVAE OF CICHLASOMA DIMERUS (TELEOSTEI, PERCIFORMES) EXPOSED TO THE PESTICIDE ENDOSULFAN

Piazza, Y.¹, Amberg, J.², Genovese, G.¹, Lo Nostro F.¹, & Sepúlveda M. S.². ¹Laboratorio de Embriología Animal, DBBE, FCEyN, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. ²Department of Forestry and Natural Resources, Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA. E-mail: fabi@bg.fcen.uba.ar.

Endocrine disrupting chemicals can affect reproduction in vertebrates by altering the hypothalamus-pituitary-gonad axis function. The organochlorine insecticide endosulfan (ES) is currently banned in several countries due to its high toxicity to non-target animals. However it is still widely used in Argentina for the control of insects in crops of high commercial value. Exposure of fish to this pesticide can cause alterations on growth, development, and reproduction. The objective of our study was to analyze the expression of some genes related to reproduction in a freshwater cichlid fish (*Cichlasoma dimerus*) after exposure to environmentally relevant concentrations of endosulfan (0.03 and 0.1 µg/l). Fish were exposed to endosulfan throughout the period of sex differentiation. At 30 and 90 days post fertilization (dpf), a representative number of fish were collected and whole bodies (without head and tail) were preserved in RNA later. Following the extraction of total RNA and synthesis of cDNA from individual bodies, the expressions of genes-of-interest were assessed using quantitative polymerase chain reaction. Genes-of interest included: *fsh*, *lh*, *vasa*, *dmrt1*, *fox12*, *vtg*, *cyp19*, and *vp*. Males exposed to the highest concentration of ES showed an up-regulation of *fox12* at 90 dpf; an up-regulation of *vtg* expression at 30 dpf; and a down-regulation of *vasa* at 90 dpf. These results suggest that endosulfan might interfere with normal sex differentiation and development.

Key words: fish larvae, gene expression, endocrine disruption, organochlorine pesticide, endosulfan.

Work supported by PIP 5877/2302.

C0220- EXPRESSÃO DE GENES ALVOS DOS RECEPTORES DE VITAMINA D (VDR) E PREGNANO X (PXR) EM PEIXES DANIO RERIO

Siebert, M.N.¹, Mattos, J.J.¹, Lühmann, K.H.¹ & Bairy, A.C.D.¹. Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil. E-mail: bairy@mbox1.ufsc.br.

O estudo da regulação de genes envolvidos no processo de biotransformação permite compreender como ocorre a modulação da defesa contra contaminantes ambientais em nível molecular. O receptor Pregnano X (PXR) e o receptor de Vitamina D (VDR) são receptores nucleares e agem como fatores de transcrição quando ativados pela ligação de moléculas específicas. Em mamíferos, PXR e VDR dividem a função de mediação da resposta de detoxificação de xenobióticos. O objetivo deste trabalho foi analisar a regulação exercida pelos receptores nucleares

PXR e VDR em genes envolvidos na detoxificação em peixes. Para isso, após o tratamento de peixes *Danio rerio* com ativadores específicos para estes receptores, foi analisada a expressão hepática de genes envolvidos no processo de biotransformação. Os ativadores utilizados foram 1 α -25 diidroxivitamina D3 (1 μ M) como ativador do VDR e 5-Pregnen-3 α -ol-20-one (1 μ M) como ativador do PXR. A expressão dos genes CYP24, CYP3C1, CYP3A65, GST α , GST ρ , PXR e VDR foram analisadas e a expressão da β -actina foi utilizada para normalizar os dados. A análise da expressão dos genes foi feita através da técnica de RT-PCR em tempo real, utilizando o método para quantificação relativa delta-delta CT. Os resultados demonstraram um aumento na expressão dos genes CYP3A65 e GST α na presença do ativador de PXR e um aumento de CYP24 na presença do ativador do VDR. Além disso, ocorreu um aumento na expressão dos genes CYP3C1, GST ρ e PXR, na presença dos indutores de VDR e PXR, sugerindo que a modulação da expressão desses genes é exercida por ambos receptores.

Palavras-chave: PXR, VDR, *Danio rerio*, Biotransformação, expressão gênica.