

LOS ANIMALES DOMÉSTICOS Y SILVESTRES COMO CENTINELAS DE CITOGENOTOXICIDAD EN AMBIENTES DIFERENTES

Ferré D, Quero AAM, Carracedo R, Lentini V, Muñoz I, Ludueña, R, Bertotto T, Tornello M, Juare K, Lucero B, Gorla NBM - CONICET, Lab. Genética, Ambiente y Reproducción (GenAR), Univ. Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Un sistema centinela debe brindar una advertencia temprana de riesgo para la salud y está definido por las variables especie animal, tipos de efecto y ambiente monitoreado. Las especies centinelas junto con los datos epidemiológicos en humanos puede ayudar a evaluar los riesgos para la salud humana. Los animales de compañía comparten un ambiente común con las personas y muchos tienen una movilidad geográfica limitada, están generalmente al margen de factores de confusión como estilos de vida, hábito de fumar, medicamentos, tóxicos laborales, y en muchos casos tienen respuestas biológicas similares pero con menores tiempos de latencia. El uso de un mismo bioindicador puede ser útil para contrastar ambientes urbanos con ambientes silvestres, estando caracterizados estos últimos por la ausencia de las presiones producidas por contaminantes antropogénicos.

OBJETIVO

El objetivo de este proyecto es utilizar el ensayo de micronúcleos citoma (MNcit) descrito en humanos y adaptarlo a animales de ambientes urbanos (caninos y felinos), agropecuarios (bovinos) y silvestres (aves y felinos) para poder ser usado como biomarcador de cito y genotoxicidad.

MATERIALES Y MÉTODO

Muestras biológicas:

- Sangre periférica de **felinos** domésticos sanos adultos mestizos (n= 12).
- Sangre periférica de felinos silvestres (Reserva Provincial Altoandina de la Chinchilla, Pcia. Jujuy, 4.500 msnm): gato andino (*L. jacobita*) (n= 3) y gatos del pajonal (*L. colocolo*) (n= 3), Alianza Gato Andino AGA: captura, toma de muestra y liberación.
- Epitelio bucal de **caninos** sanos mascotas cachorros 21,1 ± 2 días (n= 18) y adultos puros 4,2 ± 1,7 años (n= 18).
- Epitelio bucal de caninos sanos cachorros, antes y 20 días después del tratamiento con piperazina (Holliday®) 69,23 mg/kg, i.o. (n= 6).
- Epitelio bucal de 10 **bovinos** hembras mestizas, de 320 kg promedio (n= 12) y 6 mestizos sanos 125 kg (n= 6) antes y 21 días post tratamiento con ivermectina IVER (0,01g/animal SC.) y cipermetrina CYP (0,4g/100g, spray)
- Sangre periférica de **aves** silvestres de la Reserva de Ñacuñán, n=73 (17 especies).

Se sigue la descripción y características de epitelio bucal humano brindadas por Holland et al. 2008, Thomas et al. 2009 y Bolognesi et al. 2013. Coloraciones: Giemsa, naranja de acridina y/o Feulgen. Se analizaron 10³-10⁵ céls./ ind. y se informan los resultados/10³ céls.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FELINOS

El ambiente silvestre, supuestamente exento de contaminantes, podría explicar los niveles más bajos de biomarcadores en los primeros. Los felinos exhiben eritrocitos con micronúcleos de forma espontánea, y si son expuestos a agentes genotóxicos el número de eritrocitos micronucleados aumentaría como consecuencia de su acumulación y pobre eliminación por parte del sistema reticuloendotelial.

Ambiente	Especies	n	EMN/1000 cel. Giemsa	EMN/1000 cel. Naranja de acridina
Doméstico	<i>Felis domesticus</i> (gato doméstico)	12	4,13 ^a ± 0,52	16,27 ^b ± 4,63
Silvestre	<i>Leopardus jacobita</i> (gato andino) n= 3 <i>Leopardus colocolo</i> (gato del pajonal) n= 3	6	0,83 ^{**} ± 0,20	0,97 ^{***} ± 0,20

** P=0.005 and *** P=0.0001 en la comparación entre gatos domésticos y salvajes, P=0.0039 entre letras diferentes

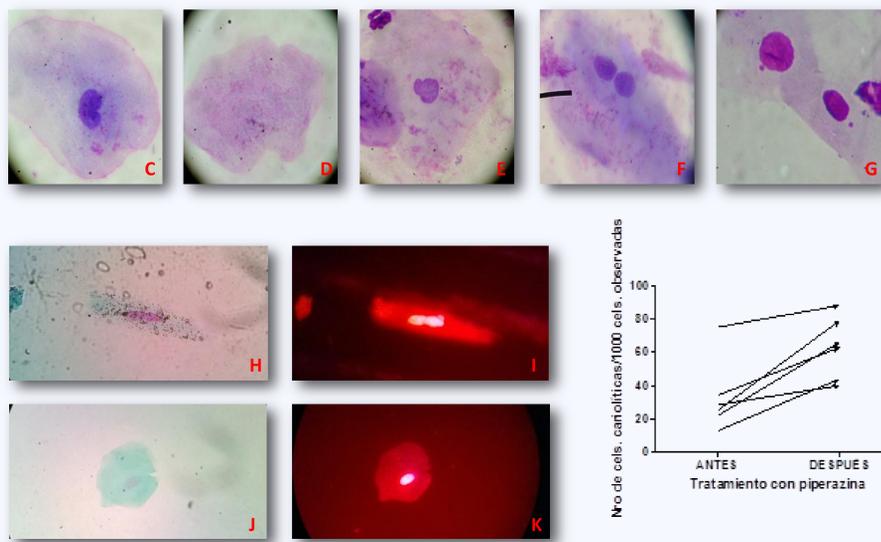


Fotos: *Leopardus jacobita* (izquierda) y *Leopardus colocolo* (derecha).

Imágenes: Frotis observado a microscopio óptico (A) y por microscopio de fluorescencia (B).

CANINOS

La piperazina en una dosis terapéutica i.o. en caninos cachorros no mostró efectos genotóxicos a través de la frecuencia de células con micronúcleos pero sí citotóxicos ya que se observó un aumento estadísticamente significativo de células carioliíticas, indicadoras de muerte celular.



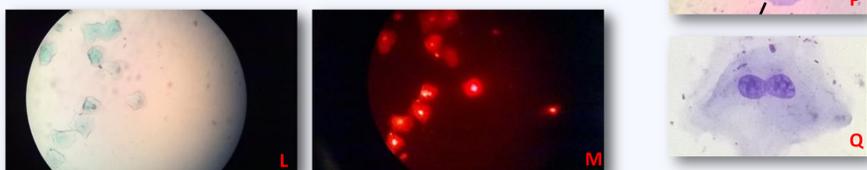
Imágenes: Tinción Giemsa en microscopio óptico (C, D, E, F, G), Tinción Feulgen en microscopio óptico (H y J) y de fluorescencia (I y K).

Figura: Frecuencia de células carioliíticas en mucosa epitelial oral observadas antes y 19 días después de la exposición al antiparasitario piperazina. Cada animal está representado en una flecha (n= 6).

BOVINOS

Se destaca la posibilidad de uso de bovinos para evaluar el impacto de contaminantes en ambientes agropecuarios. El tratamiento con una dosis terapéutica con ivermectina y cipermetrina no provocó diferencias estadísticamente significativas en los tipos de anomalías nucleares analizadas

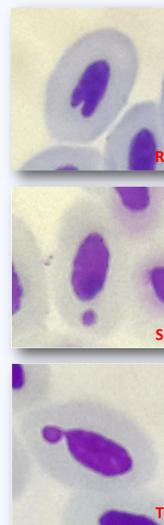
Anormalidades nucleares	Antes del tratamiento	post IVER + CYP
Cels. micronucleadas	0,8±0,3	2,34±0,7
Cels. binucleadas	0,5±0,2	0,34±0,2
Brotos nucleares	1,0±0,34	2,8±0,9
Puentes nucleoplásmicos	0,6±0,1	0,2±0,1
Cels. carioliíticas	180,3±32,8	202,5±42,2
Cels. condensadas	66,2±8,2	65,0±11,1
Cels. cariorréxicas	30,8±4,2	25,8±1,5
Cels. picnóticas	31,2±7,2	21,0±3,5
Cels. con núcleo irregular	19,2±2,3	12,2±1,9



Imágenes: Tinción Feulgen en microscopio óptico (L) y de fluorescencia (M) x400. Tinción Giemsa en microscopio óptico (N, O, P y Q).

AVES

Saltator aurantirostris y *Columbina picui* fueron las únicas especies que mostraron frecuencias de alteraciones nucleares estadísticamente diferentes, en comparación con las otras especies estudiadas de los órdenes Passeriformes y Columbiformes. Esta investigación soporta que estos biomarcadores podrían ser efectivamente aplicados para evaluar inestabilidad genética espontánea o inducida en aves silvestres



Imágenes: Tinción Giemsa en microscopio óptico (R, S y T)

Anormalidades nucleares	PASERIFORMES <i>Saltator aurantirostris</i>	COLUMBIFORMES <i>Columbina picui</i>
n	4	8
Cels. micronucleadas	1.12± 0.37	0.87± 0.19
Brotos nucleares	0.95± 0.14	0.62± 0.28
Cels. notch	6.65± 1.76	1.77± 0.84
Cels. Binucleadas	0.17± 0.07	0.35± 0.18
Cels. con Colas	0.22± 0.06	0.01± 0.01
Cels. con Puente	0.20± 0.08	0.01± 0.01



Fotos: *Columbina picui* (izquierda) y *Saltator aurantirostris* (derecha).

CONCLUSIÓN

La información sobre biomarcadores de cito y genotoxicidad en estas especies permite disponer de herramientas para poder evaluar el impacto de contaminantes intencional o accidentalmente introducidos al ambiente, y sus posibles efectos sobre la salud animal y ambiental.